FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1968

THÈSE

N° 16

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Jean-Paul TILLEMENT

Pharmacien

Ancien Interne en Pharmacie des Hôpitaux de Paris

Attaché - Assistant à la Faculté de Médecine de Paris

Assistant de Biochimie des Hôpitaux

Né le 14 Mai 1938, au Raincy (93)

Présentée et soutenue publiquement le 9 janvier 1968

Contribution à l'étude des effets métaboliques, pharmacologiques et toxicologiques de la thiamine

Président : Monsieur Jacques R. BOISSIER, Professeur

IMPRIMERIE
R. FOULON & Cie
29, Rue Deparcieux, 29
PARIS — 1968

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1968 **THÈSE** N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Jean-Paul TILLEMENT

Pharmacien

Ancien Interne en Pharmacie des Hôpitaux de Paris

Attaché - Assistant à la Faculté de Médecine de Paris

Assistant de Biochimie des Hôpitaux

Né le 14 Mai 1938, au Raincy (93)

Présentée et soutenue publiquement le 9 janvier 1968

Contribution à l'étude des effets métaboliques, pharmacologiques et toxicologiques de la thiamine

Président : Monsieur Jacques R. BOISSIER, Professeur

IMPRIMERIE
R. FOULON & Cie
29, Rue Deparcieux, 29
PARIS — 1968

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. Alajouanine (T.), Bénard (H.), Bernard (E.), Binet (L.), Bulliard (H.), Cathala (J.), Chabrol (E.), Chailley-Bert (P.), Cheymol (J.), Debré (R.), Fey (B.), Galliard (H.), Gaudart d'Allaines (F. de), Gennes (L. de), Giroud (A.), Hazard (R.), Heuyer (G.), Laroche (G.), Lavier (G.), Lelong (M.), Lévy (Mlle J.), Lévy-Solal (E.), Lian (C.), Marchal (G.), Mathieu (P.), Monod (R.), Moreau (R.), Moulonguet (P.), Pasteur Vallery-Radot, Petit-Dutaillis (D.), Piédelièvre (R.), Quénu (J.), Renard (G.), Senèque (J.), Strohl (A.), Tanon (L.), Verne (J.).

Doyen : Georges BROUET

1er assesseur : Daniel BARGETON — 2e assesseur : Jean GOSSET

I. — PROFESSEURS

1° CHAIRES DE SCIENCES FONDAMENTALES

a) Professeurs titulaires :

	MM.
Anatomie	Delmas (A.)
—	Huard (P.)
Anatomie et cytologie path.	Delarue (J.)
Anesthésiologie	Vourc'h (G.)
Bactériologie et virologie	Tournier (P.)
Biochimie médicale	Jayle (M.-F.)
—	Polonovski (J.)
—	Desgrez (P.)
Biologie appl. à l'Education physique et aux Sports	Malmejac (J.)
Biologie médicale	Fauvert (R.)
Biophysique médicale	Bugnard (L.)
—	Dognon (A.)
—	Djourno (A.)
Cancérologie expérimentale	Mathé (G.)
Chimie pathologique	Schapira (G.)
Génétique fondamentale	Lejeune (J.)
Histoire de la médecine et de la chirurgie	Coury (Ch.)
Histologie et Embryologie	Tuchmann-Duplessis (H.)
— —	Coujard (R.)
Hygiène et méd. préven.	Boyer (J.)
Médecine du Travail	Desoille (H.)
Médecine légale, Droit méd. et déontologie	Derobert (L.)
Microbiologie (Bactériol. et virologie)	Fasquelle (R.)
Parasitologie	N...
Pathologie chirurgicale	Laurence (G.)
—	Kuss (R.)
—	Verne (J.-M.)
Pathologie exotique	Brumpt (L.-C.)
Pathologie expér. et comp.	Merklen (F.-P.)
Pathologie médicale	Laroche (Cl.)
—	Bricaire (H.)
—	Péquignot (H.)
Pathologie respiratoire	Turiaf (J.)
Pathologie et thér. génér.	Maurice (P.)
Pharmacologie	Boissier (J.-R.)
—	Lechat (P.)
Physiologie	Bargeton (D.)
—	Parrot (J.)
Physiologie et path. obst.	Lepage (F.)
Radiologie médicale	Desgrez (H.)
Technique chirurgicale et Chirurgie expérimentale	N...
Thérapeutique	Lamotte (M.)
Thérapeutique appliquée	N...

b) Professeurs a titre personnel :

Anatomie	Cabrol (Ch.)
Anatomie anthropologique.	Olivier (G.)
Anatomie pathologique	Nezelof (Ch.)
Bactériologie	Barbier (P.)
Biochimie médicale	Dreyfus (J.-Cl.)
Biologie médicale	Bourlière (F.)
Parasitologie	Larivière (M.)
Pathologie expérimentale	Loeper (J.)
Physiologie	Dejours (P.)
	Scherrer (J.)
Physique médicale	Kellershohn (L.)
	Gougerot (L.)
	Roucayrol (J.-Cl.)
	Tubiana (M.)
Radiologie médicale	Fischgold (H.)

UNIV. LEIDEN BIBL.

2° CHAIRES DE SCIENCES CLINIQUES

a) Professeurs titulaires :

	MM.
Cliniques :	
— carcinologique	Denoix (P.)
— carcinologique chirurg. (Necker)	Redon (H.)
— cardiol. (Broussais) ..	Soulié (P.)
— cardiol. (Boucicaut) ..	Lenègre (J.)
— chirurgicales : *Beaujon :* Baumann (J.) - *Cochin :* Leger (L.) - *Hôtel-Dieu :* Patel (J.) - *Saint-Antoine :* Gosset - *Salpêtrière :* Sicard (A.) - *Tenon :* Olivier (Cl.).	Lortat-Jacob (J.-L.) ;
— chirurg. orthopéd. et traumatol. (Cochin) ..	Merle d'Aubigné (R.)
— chirurg. orthopéd. et traumatol. (Foch)	Padovani (P.)
— chirurg. orthopéd. et traumatol. (Beaujon) ..	Cauchoix (J.)
— chirur. infant. et orthop. (Enfants-Malades)	Fèvre (M.)
— chirurgie cardio-vascul. (Broussais)	Dubost (Ch.)
— chir. thorac. (Laennec).	Mathey (J.)
— dermatol. (Saint-Louis).	Duperrat (F.)
— endocrinolog. (Pitié) ..	Decourt (J.)
— Génét. médic. (Enfants-Malades)	Lamy (M.)
— chir. et gynéc. (Broca)	Huguier (J.)
— maladies cutanées et syphilit. (Saint-Louis) .	Degos (R.)
— maladies des enfants (Enfants-Malades)	Turpin (R.)
— malad. infect. (Claude-Bernard)	Mollaret (P.)
— malad. mentales et de l'encéph. (Sainte-Anne)	Delay (J.)
— maladies du sang (Broussais)	Bernard (J.)
— malad. du système nerveux (Salpêtrière)	Castaigne (P.)
— médicales : *Bicêtre :* Deparis (M.) - *Broussais :* Milliez (P.) - *Cochin :* N... - *Hôtel-Dieu :* Bariéty (M.) - *Pitié :* Dreyfus (G.) - *Saint-Antoine :* Conte (M.) ; Kourilsky (R.) ; Boudin (G.).	
— d'hydrologie et de climatologie (Bichat) ...	Debray (Ch.)
— médicale infantile et pédiatrie sociale (Enfants-Malades)	Marie (J.)

	MM.
— médicale propédeutique (Broussais)	Justin-Besançon (L.)
— médico-sociale du diabète sucré et des maladies métabol. (Hôtel-Dieu)	Derot (M.)
— néphrologique (Necker)	Hamburger (J.)
— neuro-chirurgie (Pitié) .	David (M.)
— neurolog. (Salpêtrière) .	Garcin (R.)
— obstétricales : *Baudelocque :* Lacomme (M.) *Saint-Antoine :* Merger (R.).	
— obstétricale et gynécol. (Port-Royal)	Varangot (J.)
— ophtalmol. (Hôtel-Dieu)	Offret (G.)
— ophtalmolog. (Cochin).	Bregeat (P.)
— oto-rhino-laryngologique (Lariboisière)	Aubry (M.)
— pédiatrie (Trousseau) .	Mozziconacci (P.)
— pédiatrie et de puéricul. (Saint-Vincent-de-Paul)	Thieffry (S.)
— pneumo-phtisiologie (Laennec)	Brouet (G.)
— neuro-psychiatrie infantile (Salpêtrière)	Michaux (L.)
— rhumatologie médicale et sociale (Cochin) ..	Coste (F.)
— rhumatol. (Lariboisière)	Sèze (S. de)
— stomatol. (Salpêtrière) .	Dechaume (M.)
— thérap. chirur. (Vaugirard)	Roux (M.)
— thérapeutique médicale (Saint-Antoine)	Lemaire (A.)
— toxicologique (Widal) .	Gaultier (M.)
— traumat. et orthopédique (R. Poincaré)	Judet (R.)
— urologique (Cochin) ..	Aboulker (P.)
— urologique (Necker) ..	Couvelaire (R.)
Hygiène et clinique de la 1re enfance (Trousseau)	Laplane (R.)
Séméiologie médicale (A. Chantin)	Domart (A.)
— (Lariboisière)	Bouvrain (Y.)
— (Pitié)	Rambert (P.)
— (Rothschild)	Wolfromm (R.)
Séméiologie et clinique chirurgicales (Broussais) .	Poilleux (F.)

b) Professeurs a titre personnel :

Hématologie	André (R.) Bousser (J.)
Hydrologie et climatologie	Giberton (A.)
Maladies infectieuses ...	Bastin (R.)
Médecine : Azerad (E.) ; Bour (H.) ; Caroli (J.) ; Dreyfus (B.) ; Grossiord (A.) ; Lambling (A.) ; Launay (Cl.) ; Payet (M.) ; Perrault (M.) ; Siguier (F.) ; Worms (R.).	
Néphrologie	Richet (G.)
Neuro-chirurgie	Le Beau (J.)
Neurologie	Lhermitte (F.)
Neuro-psychiatrie	Pichot (P.)
Oto-Rhino-Laryngologie .	Maduro (R.)
Pédiatrie	Polonovski (Cl.) Royer (P.)
Pneumo-Phtisiologie	Kreis (B.) Meyer (A.)
Rhumatologie	Delbarre (F.)

II. — PROFESSEURS SANS CHAIRE

	MM.
Anatomie pathologique ..	Gouygou (Ch.)
Bactériologie	Christol (D.)
Biochimie médicale	Cartier (P.)
	Gonnard (P.)
	Nordmann (J.)
Biologie médicale	Hartmann (L.)
Chirurgie	Cerbonnet (G.)
Hématologie	Bilski-Pasquier (G.)

	MM.
Maladies infectieuses	Dupont (V.)
Neuro-psychiatrie	Tardieu (G.)
Pédiatrie	Rossier (A.)
Physique médicale	Coursaget (J.)
	Gremy (F.)
Physiologie	Girard (Fr.)
Stomatologie	Chaput (Mme A.)

III. — PROFESSEURS DÉTACHÉS DANS LES UNIVERSITÉS ÉTRANGÈRES

Bactériologie : M. Haudurov (P.), *pr. s. ch.*

Pathologie chirurgicale : M. Rudler (J.), *pr. s. ch*

IV. — PROFESSEURS ASSOCIÉS

Hormonologie ..... Moricard (R.)

Statistique médicale et épidémiologique ..... Schwartz (D.)

Secrétaire général de la Faculté : M. Lena (J.).
Conseiller administratif : Mlle Chaintreuil (G.).
Conservateur en Chef de la Bibliothèque, Conservateur du Musée d'Histoire de la Médecine : M. le Docteur Hahn (A.).

Conservateurs : Mlles Dumaitre (P.), Laurent (H.), Le Noir (G.).
Bibliothécaires : Mmes Contet (J.), Forget (F.), Mlles Durosoy (M.-F.), Roberge (D.), Docteur Schiller (J.).

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A Monsieur le Professeur Jacques R. BOISSIER

Nous avons trouvé dans son laboratoire une ambiance de travail passionnée et enthousiaste qui nous a confirmé dans notre volonté de recherche. L'intérêt qu'il nous a témoigné en nous donnant le sujet de cette thèse et en nous permettant de collaborer à d'autres travaux, nous a donné confiance en nous-même et ouvert une voie que nous souhaitons ardemment suivre.

A ce Maître dont la brillante intelligence, l'enthousiasme et l'étonnante puissance de travail nous ont fait comprendre ce qu'est la vocation scientifique, nous disons notre reconnaissante gratitude et notre sincère attachement.

A Monsieur le Professeur Jean CHEYMOL

Interne en pharmacie dans son Service de l'Hôtel-Dieu, nous y avons acquis les bases fondamentales de la biochimie clinique. A l'Institut de Pharmacologie, nous avons largement profité de son enseignement, de ses conseils et de la rigueur de ses méthodes.

Qu'il veuille bien trouver ici le témoignage de notre gratitude pour l'intérêt et le soutien constants qu'il n'a cessé de nous prodiguer.

A Madame Solange R. CHARONNAT

Son dynamisme et la confiance totale qu'elle nous a accordée nous ont été précieux. Elle nous a fait le grand honneur de partager la responsabilité de son laboratoire.

Qu'elle soit sûre ainsi que tous les siens de notre dévouement et de notre profond attachement.

A Monsieur le Professeur René HAZARD

En hommage respectueux.

A Mademoiselle le Professeur Jeanne LÉVY

En hommage respectueux.

A Monsieur le Professeur Paul LECHAT

Nous le remercions de son enseignement
et de sa bienveillance à notre égard.
En hommage respectueux.

A Monsieur le Professeur Agrégé Pierre SIMON

Son intelligence incisive, la précision de ses critiques jointes à son amabilité souriante nous ont beaucoup aidé au cours de ces années. Il veut bien répondre à l'amitié que nous lui vouons.

Qu'il soit sûr de la fidélité de notre attachement.

A Monsieur le Professeur Charles COURY

Nous le remercions de l'enseignement qu'il a bien voulu prodiguer à son interne en pharmacie et du bienveillant intérêt qu'il n'a cessé de nous témoigner.

A Monsieur le Professeur Agrégé Michel GUERNET

Son absence de conformisme nous a bien souvent rasséréné. Qu'il soit certain que nos sentiments répondent à la généreuse amitié qu'il nous a si spontanément offerte.

A Monsieur le Professeur Paul MANDEL

A Monsieur le Professeur Agrégé Paul FABIANI

A Monsieur le Professeur Agrégé Claude ADOLPHE

A Monsieur le Professeur Agrégé Jean RUFFINO

A Monsieur Pierre PIGNARD

En hommage respectueux.

AUX MÉDECINS
DU CENTRE HOSPITALIER DE CRÉTEIL

Monsieur le Docteur Jules BRET

Monsieur le Docteur Paul LAJOUANINE

Monsieur le Docteur Charles BLATRIX

Monsieur le Docteur Lucien AUDOUZE

A Madame J. FICHELLE-PAGNY

A Mademoiselle F. COUTURIER

A Monsieur A. DOUSSIN

A tous ceux qui, collaborateurs de Monsieur le Professeur Jacques R. BOISSIER *à la Chaire de Pharmacologie de la Faculté de Médecine de Paris, ont bien voulu nous faire partager leur expérience et ainsi faciliter notre travail*

AUX INTERNES EN PHARMACIE
DES HOPITAUX DE PARIS
QUI FURENT MES COLLÈGUES ET MES AMIS

AUX INTERNES EN PHARMACIE
DU CENTRE HOSPITALIER DE CRÉTEIL

Introduction

C'est à DE CASTRO [33] que l'on doit la première description de l'utilisation de la thiamine * en anesthésiologie humaine. Chez un sujet en respiration assistée, l'administration en perfusion intra-veineuse d'une forte dose de thiamine (environ 20 g) dissoute dans du sérum glucosé isotonique induirait, selon cet auteur, une analgésie et un relâchement musculaire suffisants pour permettre une intervention chirurgicale.

L'emploi de la thiamine seule rend cependant difficile le maintien d'une anesthésie stable et « laisse subsister différentes sensations douloureuses et désagréables post-opératoires » [34]. Ces inconvénients, « souvenirs auditifs et sensations plus ou moins douloureuses encourues pendant l'anesthésie » [34], sont à rapporter, selon l'auteur, au fait d'une anesthésie provoquée par une seule drogue dont les différents effets sont difficiles à contrôler simultanément.

C'est la raison pour laquelle l'association de la thiamine à un analgésique puissant, le fentanyl, est préconisée par DE CASTRO lui-même [35]. Elle permettrait une anesthésie stable sans troubles au réveil.

L'auteur justifie son utilisation de la thiamine chez l'homme par les effets « synaptolytiques » de cette substance, dont les actions ganglioplégiques et curarisantes sont des modalités pharmacologiques connues [36, 40]. L'association au fentanyl serait ainsi un exemple de « synaptanalgésie », un effet analgésique puissant s'ajoutant au blocage de la transmission nerveuse.

En fait, ces preuves pharmacologiques sont bien minces et il est surprenant de constater que cette utilisation chez l'homme n'a pas été précédée d'études pharmacologiques et toxicologiques précises. Au contraire, il semble bien qu'un faisceau d'arguments doive en déconseiller formellement l'emploi.

---

* Afin d'éviter des répétitions multiples, le terme thiamine utilisé dans la suite de ce travail équivaut en fait à chlorhydrate de thiamine.

On a décrit en effet :

— des phénomènes d'intolérance chez l'homme, observés après administration parentérale de doses même minimes de thiamine. La forme la plus grave en est le choc thiaminique, heureusement rare mais parfois mortel [24, 62, 64];

— différents effets toxiques, bradycardie, chute tensionnelle et dépression respiratoire. Ils peuvent s'observer chez l'homme après administration parentérale de doses voisines de 1 g, c'est-à-dire bien inférieures aux doses utilisées par DE CASTRO. Chez l'animal, en outre, la thiamine développe à fortes doses une action convulsivante [24, 59, 62].

La solution perfusée est, de plus, très acide, pH : 3 à 20°C. Comme l'on administre de fortes doses, on peut craindre un dérèglement métabolique, type acidose fixe.

A tous ces arguments, DE CASTRO répond en rapportant 2.000 anesthésies sans aucun accident mortel, ni choc thiaminique, ni phénomène toxique.

En outre, dans le Service de Monsieur le Professeur DELAY, des essais ont été effectués pour rechercher une éventuelle activité psychotrope de la thiamine. Il a été possible chez plusieurs malades d'administrer, en injection intra-veineuse lente, des doses de thiamine allant jusqu'à 22 g sans observer de phénomènes toxiques [37].

Il y a ainsi une grande discordance entre les données pharmacologiques et toxicologiques classiques et les observations de DE CASTRO. Il apparaît également évident que les premières ne peuvent se comparer aux secondes sans restriction, puisqu'elles n'ont jamais été étudiées chez l'animal artificiellement ventilé.

Il importait donc de reprendre l'étude des effets de la thiamine sur l'animal dans les conditions de son utilisation humaine. Cette justification pharmacologique des observations de DE CASTRO a été entreprise par Monsieur le Professeur BOISSIER et collaborateurs. Ce travail fait partie de cet ensemble : il a pour but de préciser les principaux effets métaboliques, pharmacologiques et toxicologiques, résultant de l'administration de fortes doses de thiamine à des animaux d'espèces différentes, placés sous respiration assistée.

Les chapitres suivants seront abordés successivement :

— la répartition dans l'organisme de la thiamine injectée et les modifications métaboliques qu'elle entraîne ;

— quatre effets pharmacologiques, au niveau des organes suivants : cœur, jonction neuro-musculaire, système nerveux central et iléon. Dans ce dernier cas, l'étude a été réalisée sur l'organe isolé ;

— les doses toxiques de thiamine, les différentes composantes responsables de cette toxicité ont été mises en évidence et discutées.

CHAPITRE I

Aspects métaboliques des fortes doses de thiamine

Deux aspects ont été envisagés successivement dans ce chapitre : la répartition dans l'organisme de la thiamine administrée par voie veineuse et les modifications métaboliques qu'elle entraîne.

I) Protocoles expérimentaux

A) Espèces animales, doses et rythmes d'administration utilisés

La répartition de fortes doses de thiamine injectée à l'animal a été étudiée chez trois espèces différentes : le lapin, le chien et le rat. Des doses croissantes ont été utilisées, allant de 0,1 à 10 g de thiamine par kg de poids corporel. Elles ont été administrées en solution aqueuse à 10 g/100 ml par voie intra-veineuse.

1) LAPIN

Chez le lapin, quatre types de solutions ont été utilisées dont les compositions sont les suivantes :

Solution A :

— Thiamine ..... 10 g
— Eau distillée (q.s.p.) ..... 100 ml

Solution B :

— Thiamine ..... 10 g
— Soluté isotonique de glucose (q.s.p.) ..... 100 ml

Solution C :

— Thiamine ..... 10 g
— Carbonate acide de sodium ..... 4,5 g
— Eau distillée (q.s.p.) ..... 100 ml

Solution D :

— Thiamine ..... 10 g
— Trishydroxyméthylaminométhane ..... 4,6 g
— Eau distillée (q.s.p.) ..... 100 ml

A 25°C, les pH respectifs de ces quatre solutions sont de 2,3 ; 3 ; 7,40 et 7,40.

2) CHIEN ET RAT

Chez le chien et le rat, seule la solution A a été injectée. Différents protocoles d'administration ont été utilisés :

— Perfusion continue chez le lapin, au rythme de 2 ml de solution par minute.
— Perfusions successives, au rythme de 2 ml de solution par minute alternant avec des périodes de repos, chez le chien.
— Injection unique chez le rat.

Le *Tableau I* résume la méthodologie adoptée.

TABLEAU I

Animaux	Dose de thiamine en g/kg	Mode d'administration
Lapin	10	Perfusion continue
Chien	0,5 à 1	Plusieurs perfusions
Rat	0,1 à 0,5	Injection unique

B) Préparation des animaux

1) LAPINS

24 lapins mâles (2 à 3 kg) ont été utilisés.

Un lapin non anesthésié est fixé sur une table de contention, immédiatement trachéotomisé et mis en respiration assistée. Une canule est placée dans une artère fémorale et un premier échantillon de sang est prélevé. Par voie urétrale ou, en cas d'impossibilité après ouverture

de l'abdomen, la vessie est cathétérisée puis vidée. Une canule est mise à demeure dans une veine marginale de l'oreille ; elle servira aux injections, d'abord d'une solution aqueuse de bleu Evans à 5 g par litre à raison de 1 mg de bleu Evans par kg d'animal, puis de la solution choisie de thiamine. Quatre groupes de 6 lapins ont été ainsi traités, chaque groupe recevant une des solutions de thiamine : A, B, C ou D précédemment décrites. 8 ml de sang ont été prélevés, séparés en deux parts, l'une de 1 ml recueillie sur fluorure de sodium, l'autre de 7 ml sur une goutte d'héparine. Ces prélèvements ont été répétés toutes les trente minutes jusqu'à la mort de l'animal constatée à l'électrocardiogramme. Aux mêmes temps, les urines émises ont été collectées.

En fin d'expérience, cerveau, cœur, foie, diaphragme, muscle tibial antérieur et reins de deux lapins de chaque groupe ont été prélevés.

2) CHIENS

6 chiens mâles (20 à 40 kg) ont été utilisés.

Un chien est anesthésié par injection d'une dose de 120 mg/kg de chloralose en solution aqueuse, dans une veine saphène externe d'une patte postérieure. Le chloralose a été au préalable dissous dans le minimum d'eau distillée bouillante ; la solution a été ensuite refroidie en évitant soigneusement toute précipitation de chloralose, puis injectée.

Le chien est ensuite trachéotomisé et placé en respiration assistée. Dans une carotide externe, on introduit une canule, reliée à un manomètre à mercure solidaire d'un stylet inscripteur se déplaçant sur un cylindre tournant recouvert d'une feuille de papier enduite de noir de fumée. Ce dispositif permet de mesurer et d'enregistrer les variations de pression carotidienne. Une autre canule est alors placée dans une artère fémorale : un échantillon de sang (témoin) est immédiatement prélevé. Sur les deux premiers chiens, on pratique une bivagotomie. Des doses croissantes de thiamine : 100, 150, 200 et 500 mg par kg sont perfusées au rythme de 2 ml par minute. Chaque perfusion est séparée de la précédente par un temps d'environ quarante-cinq minutes. Entre chaque perfusion, aux temps qui seront précisés sur le *Tableau VII*, des échantillons de sang ont été prélevés dans l'artère fémorale.

3) RATS

32 rats mâles (de 150 à 200 g) ont été utilisés.

Un rat est anesthésié par inhalation d'éther. Fixé sur une planche de contention, il est immédiatement trachéotomisé, puis placé en res-

piration assistée. Dès le réveil de l'animal, la thiamine en solution aqueuse A est injectée dans une veine jugulaire externe préalablement cathétérisée.

L'animal est sacrifié par décapitation, quinze minutes après cette injection : cerveau et cœur sont aussitôt prélevés.

Les rats ont été répartis en quatre groupes de huit, recevant respectivement : 100, 200 ou 500 mg par kilo de thiamine ou un volume équivalent de solution isotonique de chlorure de sodium.

C) Dosages effectués et méthodes utilisées

Les dosages suivants ont été réalisés :

— Sur tous les prélèvements : plasma, urines et tissus, les formes libres et phosphorylées de la thiamine ont été dosées.
— Sur tous les prélèvements sanguins, urée et hématocrite ont été dosés ainsi que les ions sodium, potassium, chlore et la réserve alcaline plasmatiques.
— Sur tous les échantillons d'urine, une recherche de protéines, de cylindres et d'hémoglobine, un examen du culot urinaire ont été pratiqués.
— De plus, chez le lapin, la masse sanguine a été mesurée sur tous les prélèvements sanguins.
Chez le rat, noradrénaline et 5-hydroxytryptamine ont été dosées dans le cerveau entier. Dans le cœur, seule la noradrénaline a été mesurée.

Les méthodes suivantes ont été utilisées :

— urée : méthode à la diacétylmonoxime [56] ;
— glycémie : méthode à la glucose-oxydase [49] ;
— ion chlore : méthode de Schales [83] ;
— ion sodium et potassium : méthode au photomètre de flamme [79] ;
— réserve alcaline : méthode de Van Slyke [92] ;
— hématocrite : méthode utilisant la centrifugation en tube capillaire [77] ;
— masse sanguine : méthode colorimétrique au bleu Evans [78] ;
— noradrénaline : méthode de Shore et Olin [84] ;
— 5-hydroxytryptamine : méthode de Bogdanski et coll. [9].

Ces méthodes ont été retenues après avoir vérifié que la thiamine n'interférait pas dans le dosage pratiqué. En particulier, dans le cas de la glycémie, les méthodes classiques utilisant le pouvoir réducteur du glucose vis-à-vis des dérivés métalliques à leur valence maximale

ont été rejetées ; dans les conditions opératoires de ces dosages, ébullition et milieu alcalin, la thiamine se transforme en différents dérivés oxydés, dosés avec le glucose.

Formes libre et phosphorylées de la thiamine

1) PRINCIPE

La méthode retenue dérive de celle de BURCH [22] ; elle consiste à mesurer la fluorescence que développe le thiochrome, dérivé tricyclique obtenu par oxydation, pendant un temps déterminé, de la thiamine par le ferricyanure de potassium en milieu alcalin, l'excès de ce réactif étant ensuite détruit par addition d'eau oxygénée. Le thiochrome formé est alors extrait par l'alcool hexylique, puis dosé par fluorimétrie. La détermination différentielle des formes libre et phophorylées est possible : si, en effet, tous ces dérivés donnent la réaction du thiochrome et deviennent fluorescents, seul le thiochrome formé à partir de la thiamine libre est extrait par l'alcool hexylique ; les formes phosphorylées nécessitent donc une hydrolyse préalable qui les transforme en thiamine libre. Le dosage se réalise en deux temps :

— dosage direct de la thiamine libre ;
— dosage indirect, après hydrolyse, de la thiamine totale, les formes phosphorylées se déduisant par différence.

2) TECHNIQUE

- RÉACTIFS :

— Solution aqueuse d'acide trichloracétique à 50 g/l.
— Solution aqueuse d'acétate de potassium 4 M (392 g/l).
— Solution aqueuse d'hydroxyde de sodium 7,5 N.
— Solution aqueuse de ferricyanure de potassium 0,059 M (19,426 g/l).
— Solution aqueuse de phosphate monosodique 5,5 M (759 g/l).
— Eau oxygénée à 100 volumes.
— Alcool hexylique.
— Solution aqueuse d'acide chlorhydrique 0,1 N.

Toutes les solutions sont préparées avec de l'eau bidistillée.

Les réactifs oxydants sont obtenus extemporanément de la façon suivante :

Réactif A :

— Solution d'hydroxyde de sodium ..... 100 ml
— Solution de ferricyanure de potassium .. 6,5 ml
Agiter.

Réactif B :

— Solution de phosphate monosodique .... 100 ml
— Eau oxygénée ..... 0,1 ml
Agiter.

Une solution d'activité phosphatasique acide élevée a été préparée et titrée selon la méthode de Burch [22], à partir d'une dilution de liquide spermatique. Pour réaliser l'hydrolyse des formes phosphorylées, le milieu est tamponné à pH : 5. Le substrat incube alors avec la solution enzymatique, à la température de 37°C de quatre à vingt heures selon les quantités présentes.

• Mode opératoire :

a) *Dosage plasmatique et urinaire :*

Les différents stades sont résumés dans le *Tableau II.*

Tableau II

NUMERO ET DESIGNATION DES TUBES	THIAMINE LIBRE			THIAMINE TOTALE		
	1	2	3	4	5	6
Réactifs en ml	Blanc	Dosage	Etalon	Blanc	Dosage	Etalon
Acide trichloracétique à 5 %	5	5	0	5	5	0
Dilution dans OH_2 à 1/5000 de plasma ou d'urine	0	4	0	0	4	0
Agitation 5 mn à l'agitateur de Kahn						
Solution de thiamine à 2 µg/ml	0	0	4	0	0	4
Soude N	0	0	0	1,5	1,5	0
Tampon acétate de Potassium	0	0	0	4	4	0
Solution enzymatique	0	0	0	2	2	0
Eau bidistillée	15	11	16	7,5	3,5	16
Hydrolyse 20 h., 37° C						
Réactif A	12	12	12	12	12	12
Agitation pendant 15 sec.						
Réactif B	12	12	12	12	12	12
Agitation jusqu'à décoloration						
Alcool hexylique	5	5	5	5	5	5
Agitation 10 mn à l'agitateur de Kahn ; prélèvement de l'alcool surnageant ; lecture.						

La détermination fluorimétrique est réalisée avec un appareil modèle Béarn (Jobin-Yvon). Les maxima d'excitation et de fluorescence du thiochrome se situent respectivement à 385 mμ et 438 mμ. Les déviations enregistrées sont rigoureusement proportionnelles aux doses de thiochrome pour des concentrations finales, dans l'alcool hexylique allant de 2.10^{-12} μg/ml à 10 μg/ml. Dans ces conditions, les caractéristiques de l'appareil sont les suivantes :

Excitation :

largeur de fente ..... 0,5 mm

Réception :

largeur de fente ..... 0,5 mm
hauteur de fente ..... 1,25 mm

b) *Dosage tissulaire :*

Les organes sont utilisés en totalité à l'exception du foie dont on prélève un échantillon de quelques grammes. Un broyage préalable se réalise au mortier à l'aide de sable de Fontainebleau : 100 ml de solution N/10 d'acide chlorhydrique y sont ajoutés en agitant jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène, portée au bain-marie bouillant pendant trente minutes. Elle est ensuite rapidement refroidie jusqu'à la température de 50°C : on en prélève une partie aliquote contenant approximativement de 10 à 20 μg de thiamine totale. Si elle est nécessaire, une dilution préalable de la suspension est réalisée avec une solution aqueuse d'acide chlorhydrique N/10. Les prélèvements peuvent être conservés plusieurs jours à la température de — 10°C ; de cette façon, après cinq jours, les quantités retrouvées n'ont diminué que de 8 % par rapport à celles obtenues par traitement immédiat.

3) QUANTITES RETROUVEES

Après addition de quantités connues aux liquides extraits, les quantités retrouvées de thiamine libre et de ses formes phosphorylées, exprimées en %, sont les suivantes :

— en solution aqueuse pure ..... 95 ± 5 %
— ajoutées à un « pool » de plasma .... 80 ± 5 %
— ajoutées à un « pool » d'urines ..... 85 ± 5 %
— ajoutées à différentes suspensions tissulaires ..... 83 ± 5 %

II) Distribution de la thiamine injectée à fortes doses

A) Chez le lapin

QUANTITES RETROUVEES

Sur la *Figure 1* sont indiquées les concentrations plasmatiques et les quantités retrouvées dans l'urine, de thiamine libre et phosphorylées, au cours de la perfusion. Les taux plasmatiques augmentent de façon variable, la pente de la courbe semblant dépendre du débit urinaire.

TABLEAU III

Temps en minutes	15	30	60	90	120	150	180	210	240
Quantité de thiamine injectée	3	6	12	18	24	30	36	42	48
Thiamine seule									
Lapin N° 1		15	23	27	31	31	28	23	
2		36	45	34					
3	33	36	50						
4	43	34	22	34					
5	30	31	29	32					
6	2	4,7	11,8	15	26				
Thiamine + glucose									
Lapin N° 1	41,5	33,5	34,5	25					
2		36	35	46					
3		38,5	36,5	39,5					
4		28	29	39,5					
5		31	34	33					
6		31	35,5	32	25				
Thiamine + CO_3HNa									
Lapin N° 1		44	56	54	43	42	52	48	
2	28	23	23	19	16	15	15	22	
3	43	40	48,5	42,5	36,5				
4		76	35	30	35	33	40	46	40
5	46	42	44	45	43,5	40	35,5		
6		15,7	17	12,5	13	17,5			
Thiamine + THAM									
Lapin N° 1	25	21	30	27	19	16	18		
2	5	45	35	24	20				
3		35	32	32	25	26			
4	31	25	23	17,5	14	10,5	11		
5	44,5	33	31	24	17				
6	27	29	30	25	20	16	20	18	

Les nombres représentent les pourcentages de thiamine retrouvée dans le plasma et dans l'urine par rapport aux doses injectées, aux différents temps des perfusions.

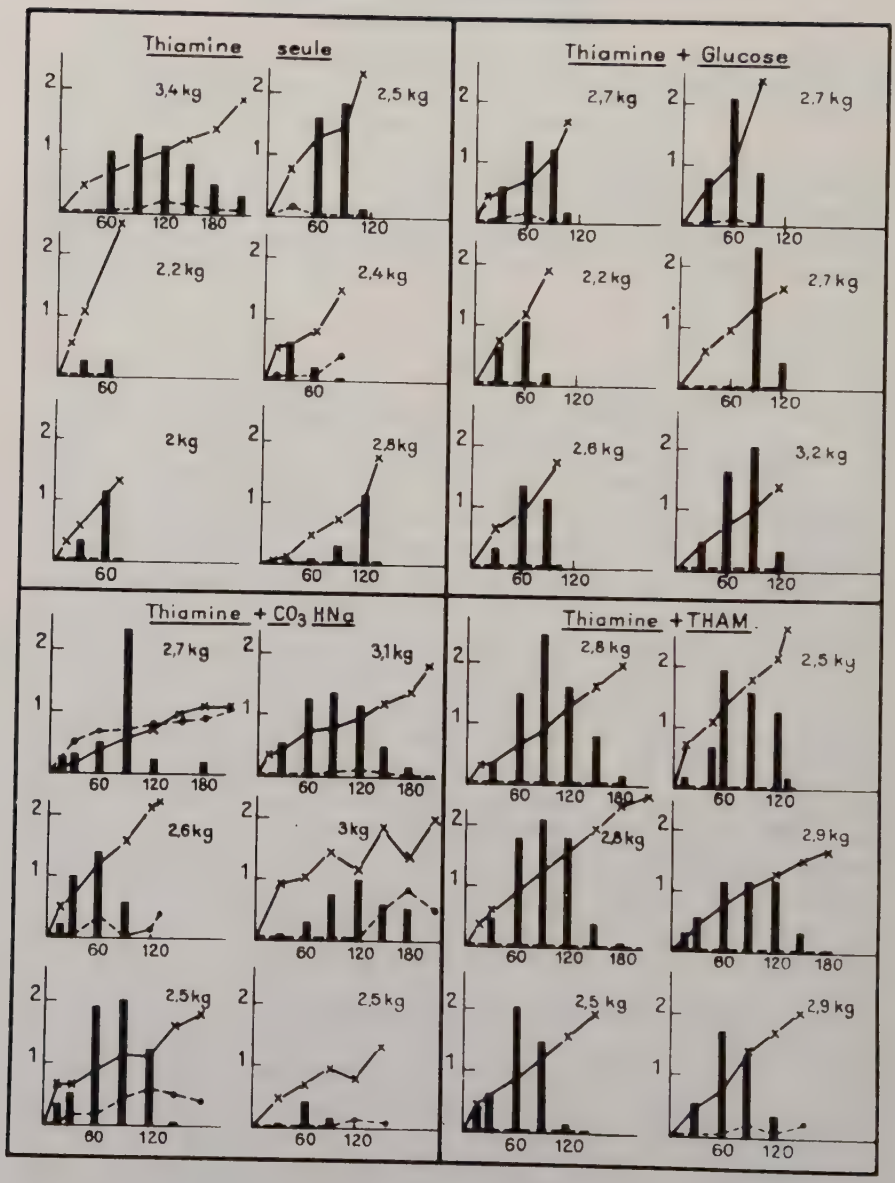

FIGURE 1

— *En ordonnées :* concentration plasmatique de thiamine libre en g/100 ml (courbe en *trait plein*) ; concentration plasmatique de thiamine phosphorylée en g/100 ml (courbe en *pointillé*) ; quantité urinaire de thiamine libre en grammes par échantillon d'urines (*rectangles noirs*).

— *En abscisses :* temps en minutes.

Celui-ci varie avec la nature de la solution injectée, mais aussi, à l'intérieur d'un même groupe, selon l'animal considéré. Les solutions neutralisées entraînent d'autre part les plus fortes diurèses. Le *Tableau III* indique le pourcentage des quantités de thiamine retrouvées dans le plasma et l'urine par rapport aux doses injectées, au cours des perfusions. Le plus souvent, ce pourcentage diminue au fur et à mesure de la perfusion indiquant, soit une fixation tissulaire plus grande, soit une transformation métabolique plus intense.

Le *Tableau IV* indique les quantités de thiamine retrouvées « post-mortem » dans les principaux organes. Reins, cœur et foie en sont les plus riches, le diaphragme, le muscle tibial antérieur et le cerveau en fixant des quantités moins importantes.

TABLEAU IV

lution jectée	A Thiamine seule				B Thiamine + Glucose				C Thiamine + CO_3HNa				D Thiamine + THAM			
ids des pins en lo	2		2,85		3,2		2,2		3,1		2,6		2,8		2,9	
antité de iamine jectée g	15		27		26		17		40		26		27		30	
antité de iamine trouvée en γ/g tissu rais	TL	TP	TL	TP	TL	TP	TL	TP	TL	TP	TL	TP	TL	TP	TL	TP
eur	10		6,85		10,7	0,3	9,9		9,1		5,22		8,8		13	
rveau	0,84	1,11	0,65	0,66	0,87	0,02	1,24	0,06	4,7		2,9		3,7		2,18	
ie	12,6		7		10,3		8,65	0,62	4,9		6,65		12		8,25	1,45
ins	13,3		12,8		15		14,8		15,5		14,7	0,6	13,3		13,8	1,70
aphragme	11	0,8	4,7		6,7		7,1	0,7	7	1,3	5,95	0,2	5,7		9,1	
bial térieur	2,02	0,26	0,42		0,58		2	0,3	1	0,10	1,85		2,5		4,65	

TL = Thiamine libre ; TP = Thiamine phosphorylée

FORMES RETROUVEES

- DANS LE PLASMA :

1) *Les formes libre et liée aux protéines plasmatiques.*

Sous ce terme, on désigne la thiamine présente dans le plasma à l'état pur, telle qu'elle a été perfusée, non phosphorylée. Elle peut

exister sous deux formes, l'une liée aux protéines, l'autre libre. La présence de ces deux formes a été recherchée par électrophorèse sur papier : l'électrophorèse est réalisée en double, une bande étant révélée par un réactif colorant les protéines : l'amidoschwartz en solution méthanolique, la bande étant ensuite lavée avec un mélange éthanol-acide acétique et eau, l'autre bande étant plongée dans une solution alcaline de ferricyanure de potassium transformant la thiamine en thiochrome, visible en lumière ultraviolette.

En début de perfusion, il existe dans tous les plasma étudiés deux fractions thiaminiques, l'une fixée aux sérum-albumines, l'autre libre.

Au cours des perfusions, l'augmentation du taux plasmatique de thiamine s'accompagne d'une fixation sur toutes les globulines et d'une élévation de la forme libre.

La fixation protéique de la thiamine n'est donc spécifique des sérum-albumines qu'aux concentrations plasmatiques faibles.

2) *Les formes phosphorylées.*

Leur présence dans le plasma est inconstante. Elles apparaissent principalement lors de la perfusion des solutions C où la thiamine est neutralisée par le carbonate acide de sodium. Dans ce cas, les formes mono et biphosphorylées de la thiamine ont pu être mises en évidence, la deuxième étant quantitativement la plus importante.

- DANS L'URINE :

1) *La forme libre.*

C'est la forme principale sous laquelle la thiamine est retrouvée dans les urines, seule forme présente en début de perfusion. Cette constatation a déjà été rapportée chez le lapin [92], chez le rat [16] et chez l'homme [45].

2) *Les formes phosphorylées.*

Elles n'apparaissent qu'en fin de perfusion. Les urines recueillies sont alors troubles et contiennent de l'hémoglobine et des cylindres granuleux. Il y a donc lésion rénale ce qui explique la présence dans l'urine, de dérivés thiaminiques normalement réabsorbés au niveau tubulaire.

- DANS LES TISSUS :

La forme libre prédomine dans tous les tissus analysés. Les formes phosphorylées s'y trouvent en faibles quantités, difficilement décelables par la technique utilisée.

• DANS LES SELLES :

Lors de trois expériences, des selles ont été émises et recueillies. Leur analyse a permis de mettre en évidence de grandes quantités de thiamine libre. Seule, une excrétion intestinale active de la thiamine peut expliquer cette présence.

B) Chez le chien

QUANTITES RETROUVEES

Les concentrations plasmatiques atteintes après les différentes perfusions de thiamine et leurs diminutions en fonction du temps sont représentées sur la *Figure 2*. Deux points principaux sont à considérer :

— la vitesse de disparition plasmatique de la thiamine ;
— l'accumulation plasmatique de la thiamine après plusieurs perfusions.

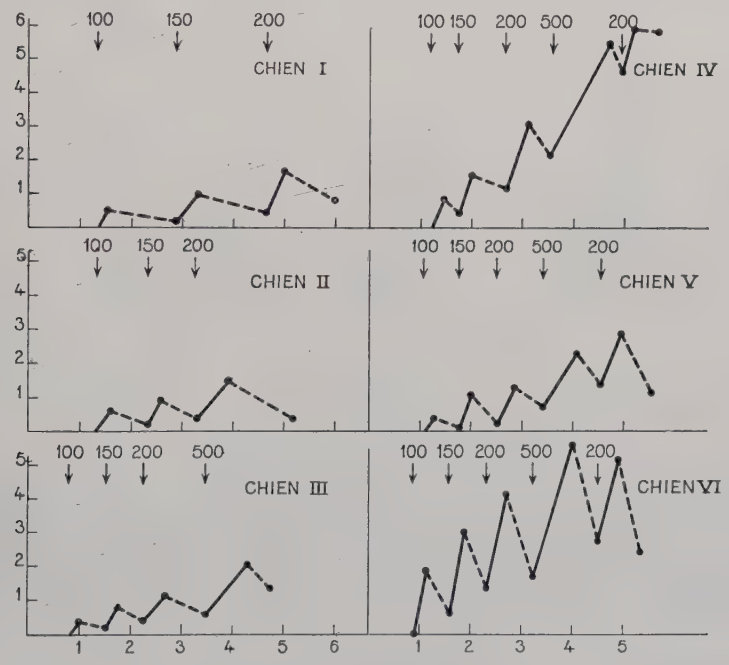

FIGURE 2

Concentrations plasmatiques de thiamine après perfusions

— En ordonnées : concentrations plasmatiques de thiamine en mg par ml.
— En abscisses : temps en heures.
— Les chiffres indiqués au-dessus des flèches correspondent aux quantités de thiamine perfusée, exprimées en mg par kg de poids d'animal.
(Début de la perfusion à l'endroit de la flèche.)

- La vitesse de disparition plasmatique de la thiamine :

Les dosages réalisés sont trop peu nombreux pour que l'on puisse envisager le calcul d'une demi-vie plasmatique de la substance injectée. On peut cependant en avoir une idée en reportant en coordonnées semi-logarithmiques les concentrations observées et en mesurant le temps nécessaire pour atteindre une concentration moitié de la concentration obtenue en fin de perfusion. Le calcul donne : T 1/2 = 36 minutes ± 7, valeur moyenne obtenue en utilisant les résultats des six chiens (M ± 2 Sm). On peut ainsi constater que les taux plasmatiques diminuent très vite et qu'il n'existe pas de rétention plasmatique de thiamine.

- L'accumulation plasmatique après perfusion de plusieurs doses de thiamine :

Du calcul précédent, on peut déduire que la disparition plasmatique d'une dose donnée de thiamine se réalise, chez le chien, en un temps d'environ 72 minutes. Les différentes perfusions réalisées chez l'animal n'étant séparées que par des intervalles de temps d'environ 45 minutes, l'épuration plasmatique n'est de ce fait jamais totale ; ceci explique que les concentrations observées après les dernières perfusions soient, comparées aux concentrations obtenues après les premières perfusions, plus grandes que le laisserait supposer le rapport des doses injectées. Il semble donc que l'on puisse conclure qu'il n'existe pas chez le chien, d'accumulation plasmatique de thiamine.

Il existe cependant une exception dans les résultats rapportés, celle du chien n° IV : l'existence d'une anurie avec pyurie et cylindrurie a permis « a posteriori » de supposer qu'il était lors de l'expérience en état d'insuffisance rénale. Pour cette raison, il n'en a pas été tenu compte pour juger de l'accumulation.

FORMES RETROUVEES

Dans le plasma, la thiamine a été retrouvée surtout sous forme libre, la forme diphosphorylée ne s'y trouvant qu'à l'état de traces, correspondant aux concentrations physiologiques normales.

C) Chez le rat

QUANTITES RETROUVEES

La *Figure 3* indique les moyennes des taux tissulaires en thiamine, du cerveau et du cœur des rats ayant reçu des doses de 100, 200 ou 500 mg/kg de thiamine. Il est indiscutable qu'aux doses fortes, la

fixation de thiamine est plus importante au niveau du cœur qu'au niveau du cerveau. Pour ce dernier, la fixation peut être considérée comme proportionnelle aux doses injectées. Par contre, la substance s'accumule au niveau du cœur.

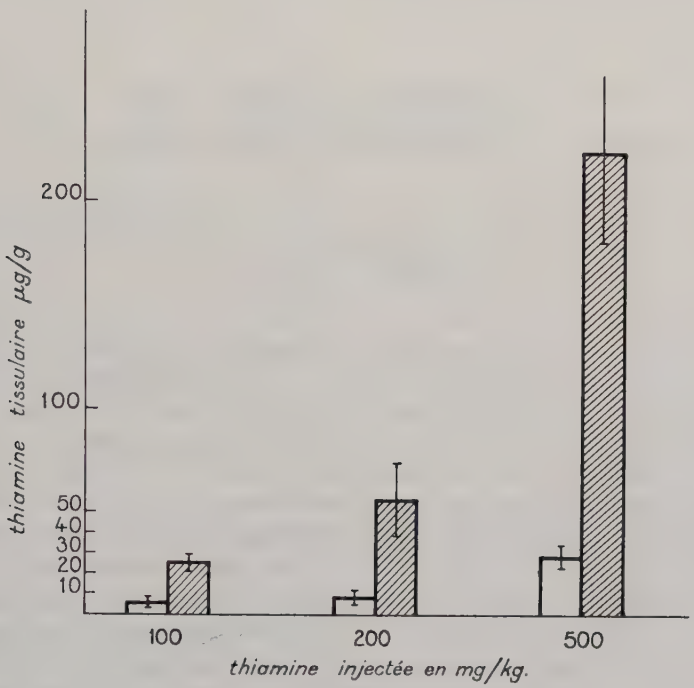

FIGURE 3

Taux tissulaires de thiamine obtenus après injections intra-veineuses de différentes doses chez le rat

— Colonnes blanches : concentrations cérébrales en mg par gramme de tissu.

— Colonnes hachurées : concentrations cardiaques en mg par gramme de tissu.

Les taux des témoins n'ont pas été représentés : cœur : 0,33 ± 0,10 µg par gramme de tissu ; cerveau : 0,60 ± 0,12 µg par gramme de tissu.

Chaque colonne représente la moyenne de 8 animaux, les barres verticales représentent 2 Sm.

FORMES RETROUVÉES

La forme libre reste la forme de fixation majeure de la thiamine au niveau des deux organes. Cependant les formes phosphorylées y apparaissent en quantités non négligeables de l'ordre de 10 %, comme l'indique le *Tableau V*.

TABLEAU V

Pourcentages de formes phosphorylées dans les taux de thiamine totale retrouvés dans les tissus

Doses de Thiamine injectée en mg/kg / Tissus	0	100	200	500
Cerveau	43	8	12	10
Coeur	12	16	9	10

Chez les trois espèces animales étudiées, la thiamine injectée à fortes doses, ne semble pas notablement modifiée dans l'organisme. Elle n'est ni dégradée, ni phosphorylée de façon importante, la plus grande part de la dose administrée se retrouvant intacte, non transformée, dans le sang, l'urine et les tissus. On ne peut cependant exclure une transformation métabolique minime formant un composé thiaminique donnant la réaction du thiochrome puisque cette propriété chimique est le seul critère de ces évaluations quantitatives.

Plusieurs auteurs (7, 29, 45, 46, 50, 53, 65, 75, 93) utilisant des doses plus faibles, ont conclu de la même manière que la molécule était peu modifiée dans l'organisme et excrétée en nature dans l'urine.

L'apparition de formes phosphorylées plasmatiques n'est pas constante mais coïncide, lorsqu'elle survient, avec une meilleure tolérance de l'organisme à la thiamine. Elle se produit surtout lors de la perfusion de solution thiaminique neutralisée par le carbonate acide de sodium : il est donc logique de penser que, dans ce cas, la phosphorylation protège l'animal ou tout au moins, lui permet de supporter des doses plus fortes de thiamine. Il est impossible, dans ces expériences, de se rendre compte de l'importance de la phosphorylation thiaminique, les dérivés phosphorylés formés, classiquement tissulaires et non circulants, échappant à une mesure précise. L'apparition plasmatique de ces derniers est, à une exception près, irrégulière, survenant en fin de perfusion ce qui permet de supposer que seule une relative saturation tissulaire en dérivés phosphorylés permet leur libération plasmatique.

Injectée à fortes doses, la thiamine se fixe plus fortement sur certains tissus : reins et cœur en particulier.

Aux doses moyennes, de l'ordre de 1 g/kg, la thiamine ne s'accumule pas dans le plasma du chien. Son temps de demi-disparition y est court. Bien qu'il soit hasardeux de transposer les résultats expérimentaux en clinique humaine, cette constatation rejoint celle de De Castro, qui, à des doses sensiblement équivalentes, n'a jamais rapporté chez l'homme d'effets retardés ou prolongés.

III) Incidences métaboliques de l'administration de fortes doses de thiamine

A) Plasmatiques

CHEZ LE LAPIN

Les *figures 4, 5, 6* et *7* indiquent les variations ioniques observées en fonction des taux de thiamine simultanément atteints, au cours des différentes perfusions.

- Ion potassium :

Les variations de la kaliémie peuvent être classées en deux groupes selon qu'elles sont communes à tous les lapins ou particulières à un groupe déterminé.

Les caractéristiques de l'évolution de la kaliémie, communes à tous les lapins sont les suivantes :

— la kaliémie n'est pas modifiée en début de perfusion ;
— elle ne varie en cours de perfusion qu'après un temps de latence, variable selon les lapins, mais correspondant à une concentration plasmatique thiaminique de 10 mg/ml, commune à tous les animaux.
— à partir de ce seuil, la kaliémie s'élève régulièrement, ses variations étant proportionnelles à celles de la thiaminémie.

Les hyperkaliémies observées à ce stade sont d'importance variable, plus grandes lorsque l'on perfuse les solutions A et B, moins grandes si l'on emploie les solutions C et D. Les moyennes des kaliémies observées au moment de la mort des animaux sont respectivement de 8,4 ; 9,2 ; 7,6 et 6,7 mEq/l lorsque les solutions A, B, C et D sont perfusées.

- Ion chlore :

Quelle que soit la nature de la solution perfusée, la chlorémie s'élève dès le début de la perfusion, les variations étant proportionnelles à celles des taux plasmatiques de thiamine.

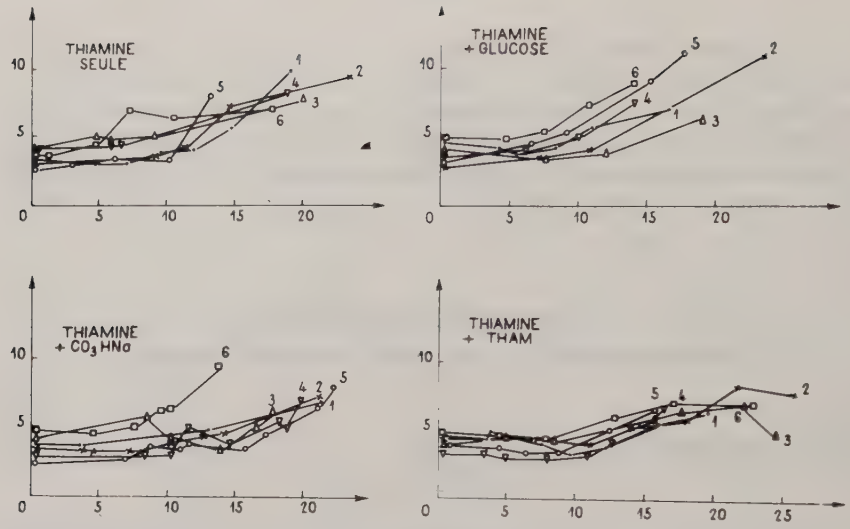

FIGURE 4

— *En ordonnées :* taux de potassium plasmatique en mEq/l.
— *En abscisses :* taux plasmatique de thiamine libre en g/l.
Les numéros correspondent aux numéros de chaque lapin en expérience.

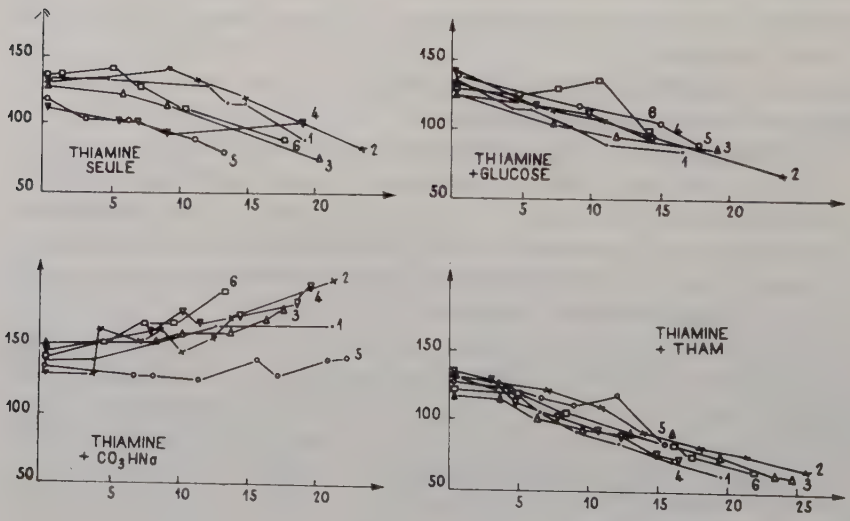

FIGURE 5

— *En ordonnées :* taux de sodium plasmatique en mEq/l.
— *En abscisses :* taux plasmatique de thiamine libre en g/l.
Les numéros correspondent aux numéros de chaque lapin en expérience.

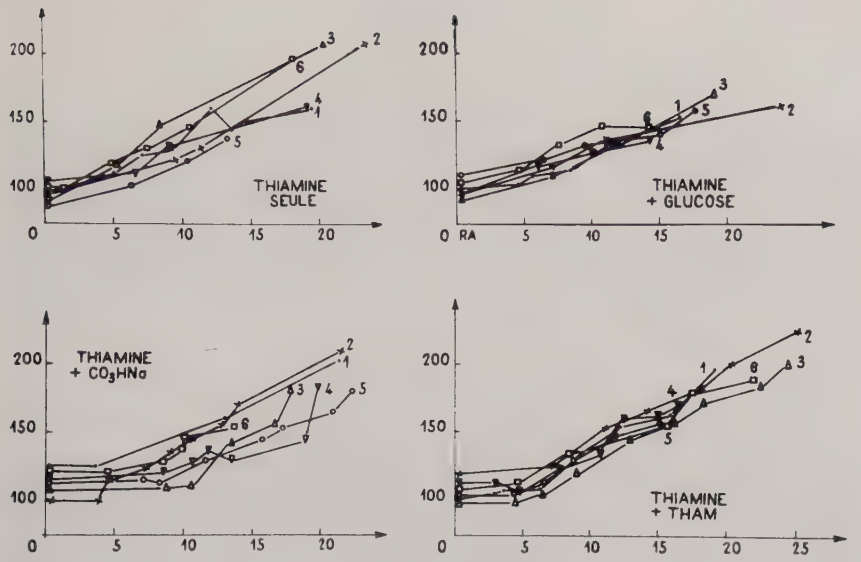

FIGURE 6

— *En ordonnées :* taux de chlore plasmatique en mEq/l.
— *En abscisses :* taux plasmatique de thiamine libre en g/l.
Les numéros correspondent aux numéros de chaque lapin en expérience.

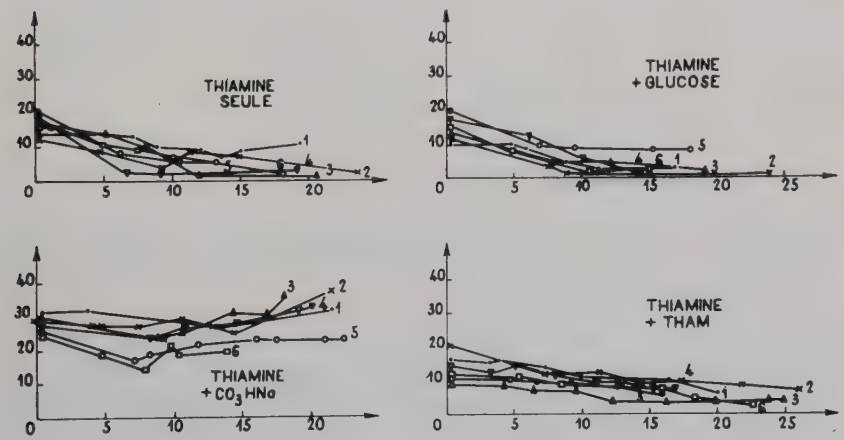

FIGURE 7

— *En ordonnées :* taux de CO_3H^- plasmatique en mEq/l.
— *En abscisses :* taux plasmatique de thiamine libre en g/l.
Les numéros correspondent aux numéros de chaque lapin en expérience.

• Ion sodium :

Si l'on excepte le cas des perfusions de la solution C où la natrémie s'élève régulièrement, dans tous les autres cas, la natrémie diminue dès le début de la perfusion, ses variations étant proportionnelles aux taux plasmatiques de thiamine simultanément atteints. La baisse la plus importante est obtenue lors des perfusions de la solution D mais il faut noter que, dans ce cas, les perfusions durent plus longtemps.

• Réserve alcaline :

Les variations de la réserve alcaline sont parallèles à celles de la natrémie. Comme précédemment, il convient de dissocier l'étude des effets de la solution C des autres résultats. Lors des perfusions des solutions A, B et D, la réserve alcaline diminue parallèlement à l'augmentation de la concentration plasmatique de thiamine. La perfusion des solutions A et B entraîne les variations les plus intenses, conduisant le plus souvent à l'annulation de la réserve alcaline. Les lapins sont alors très rapidement en état d'acidose fixe compensée puis décompensée. Les perfusions de solution D entraînent des variations quantitativement moins grandes.

• Glycémie :

Le *Tableau VI* indique les variations de la glycémie au cours des différentes perfusions. Il faut en dissocier les résultats obtenus par perfusion de la solution B où la glycémie augmente régulièrement.

Elle varie peu lorsque l'on perfuse les solutions de type A. Par contre, au cours des perfusions des solutions C et D, on note des poussées d'hypoglycémie, intenses et brèves.

• Urémie et hématocrite :

Les taux d'urée et les hématocrites ne sont pas rapportés. Les premiers varient peu, les autres diminuent régulièrement quelle que soit la nature de la solution perfusée.

TABLEAU VI

Variations de la glycémie au cours des différentes perfusions

Temps en minutes	0	30	60	90	120	150	180	210	240
Quantité en g de thiamine injectée	0	6	12	18	24	30	36	42	48
Solution A									
Lapin N° 1	2,30	2,40	1,70	1,70	1,00	0,80	0,80	1,40	
2	1,37	1,17	1,03	1,10					
3	1,58	1,58	1,64						
4	3,60	3,60	3,30	3,40					
5	1,50	1,59	1,59	1,68					
6	1,17	1,24	1,00	0,96	1,82	1,48			
Solution B									
Lapin N° 1	0,92	3,40	4,40	5,50					
2	0,82	2,90	4,68	16,5					
3	0,80	4,58	6,30	11,9					
4	1,25	3,45	4,50	7,30					
5	1,45	3,50	5,40	9,00					
6	1,12	3,20	5,12	6,00	9,44				
Solution C									
Lapin N° 1	0,95	0,22	0,35	0,24	0,42	0,54	0,54	0,10	
2	1,80	1,60	0,10	0,65	0,43	0,50	0,32	0,10	
3	1,10	1,00	0,65	0,60	0,45				
4	1,45	1,20	0,15	0,92	0,76	0,53	0,53	0,23	0,17
5	2,18	2,00	2,06	1,75	1,62	1,06	1,09		
6	1,10	1,00	0,65	0,60	0,50	0,45			
Solution D									
Lapin N° 1	1,40	1,40	1,65	1,10	0,90	0,40	0,30		
2	1,47	0,86	0,78	0,65	0,52				
3	1,54	0,82	0,45	0,36	0,36	0,27			
4	1,52	1,42	1,04	0,66	0,62	0,28	0,19		
5	1,58	0,90	0,83	0,45	0,33				
6	1,80	1,90	1,20	0,80	0,40	0,35	0,30	0,15	

* *

Les principales modifications observées peuvent s'expliquer de la façon suivante : les diminutions des concentrations en certains éléments sont dues tout d'abord à l'effet de dilution plasmatique causé par l'apport hydrique important que réalisent les perfusions. Ainsi s'expliquent :

— les variations de la glycémie lors des perfusions de solution A ;
— les variations de la réserve alcaline lors des perfusions de solution D ;
— les variations de l'hématocrite au cours de toute perfusion. Une

cause supplémentaire de diminution de l'hématocrite s'y ajoute : l'importance et la fréquence des prélèvements sanguins effectués.

— les variations de la natrémie lorsque l'on perfuse les solutions A, B et D. A l'effet de dilution plasmatique s'ajoute aussi dans ces cas une élimination urinaire accrue de sodium, particulièrement nette lors de l'emploi de solution D.

Un effet métabolique peut seul expliquer, par contre, les crises d'hypoglycémie intenses et brèves qui surviennent lorsque l'on perfuse les solutions C et D. Deux hypothèses semblent possibles pour les expliquer, soit une inhibition de la glycogénolyse, soit un excès d'utilisation du glucose. On peut imaginer dans le premier cas, un processus compétitif au niveau des réactions de phosphorylation des liaisons 1-4 du glycogène d'une part, de la thiamine d'autre part. Une inhibition complète d'un système au profit de l'autre paraît improbable puisque les hypoglycémies sont transitoires et que des formes phosphorylées de la thiamine apparaissent dans le plasma en fin de perfusion de ces solutions. Dans le deuxième cas, l'hypothèse d'un excès d'utilisation de glucose paraît plus séduisante ; la phosphorylation continue d'une certaine fraction de thiamine nécessite un apport énergétique considérable qui expliquerait au niveau du foie, la mobilisation glycogénique et les chutes brutales de la glycémie, rapidement compensées.

Les augmentations des concentrations plasmatiques de différents composés au cours des perfusions s'expliquent aisément lorsque l'élément dosé est apporté par la solution perfusée. Ainsi on comprend :

— les variations de la chlorémie, constante quelle que soit la nature de la solution perfusée ;

— les variations de la glycémie lorsque l'on perfuse la solution B ;

— les variations de la natrémie et de la réserve alcaline lorsque l'on perfuse la solution C ;

— l'acidose fixe lorsque l'on perfuse les solutions A et B qui réalisent un apport plasmatique constant d'ions H^+. L'acidité de la solution perfusée est d'abord compensée, la réserve alcaline diminue. L'acidose est décompensée lorsqu'elle s'annule.

Les variations de la kaliémie ne peuvent s'expliquer par un tel phénomène. L'hyperkaliémie observée semble être le reflet d'une lyse tissulaire intense, plus grande que ne le laissent supposer les kaliémies observées, compensées en partie par la dilution plasmatique que réalise l'apport hydrique. L'acidose fixe aggrave encore ces phénomènes, provoquant souvent au niveau plasmatique une hémolyse intense. Il est à noter cependant que l'hyperkaliémie constatée n'apparaît qu'après un certain seuil correspondant à une concentration thiaminique déjà importante obtenue chez le lapin, d'après les résultats du paragraphe I, par injection d'une dose de thiamine d'environ 4 g par kg. Si l'on compare

cette dose avec celle qu'utilise De Castro, ce qui ne saurait être fait qu'avec beaucoup de prudence, on constate que la dose utilisée chez l'homme est nettement plus faible, jamais supérieure à 0,3 g/kg. On peut donc supposer, bien que cela reste à vérifier, que l'utilisation anesthésiologique de thiamine n'induit pas de tels désordres métaboliques.

CHEZ LE CHIEN

Chez cinq chiens, aucune variation des différents éléments dosés n'a été observée, les perfusions successives de doses croissantes de thiamine n'ayant entraîné aucune modification ionique plasmatique, mais seulement un abaissement discret de la glycémie.

Les résultats obtenus chez le chien n° IV sont rapportés sur le *Tableau VII*. En effet, chez cet animal dont l'atteinte rénale a été précédemment discutée, les variations suivantes ont été observées :
— l'urémie, forte au départ, n'a que peu varié après les perfusions ;
— la glycémie et la réserve alcaline ont diminué.

Tableau VII

Incidences plasmatiques de l'injection de thiamine (chien n° IV)

N° du prélèvement	Temps en minutes après le début des prélèvements	K + mEq/l	Na + mEq/l	Cl - mEq/l	RA mEq/l	Glycémie g/l	Urée g/l	Hématocrite %
0	0	4,6	155	111	19,5	0,86	0,78	55
1	85	4,5	152	116	17	0,80	0,80	54
2	103	4,2	152	114	17	0,85	0,80	49
3	125	4,5	152	117	14,2	0,45	0,82	46
4	162	4,5	152	119	15	0,43	0,88	47
5	187	4,6	144	121	12,5	0,36	0,82	45
6	210	4,7	148	122	12	0,46	0,90	43
7	282	5	140	128	8	0,93	0,90	40
8	295	4,9	144	131	9	0,26	0,94	43
9	310	4,9	140	131	8	0,30	0,96	42
10	335	4,6	140	133	8	0,23	0,88	40

Aussitôt après les prélèvements 0 : injection de thiamine = 100 mg/kg
» » 2 : » = 150 mg/kg
» » 4 : » = 200 mg/kg
» » 6 : » = 500 mg/kg
» » 8 : » = 200 mg/kg

Malgré la rétention plasmatique de thiamine observée après les deux dernières perfusions, aucune modification ionique n'est survenue.

Il apparaît ainsi que chez le chien, la thiamine à la dose totale d'environ 1 g par kilo, n'entraîne pas de modifications plasmatiques notables.

Ce résultat est identique aux observations précédentes et confirme qu'à doses faibles, la thiamine n'entraîne pas, au niveau plasmatique, de désordres métaboliques.

B) Urinaires

Seules les modifications urinaires survenues chez le lapin au cours des différentes perfusions ont été analysées et rapportées ici.

Modifications quantitatives :

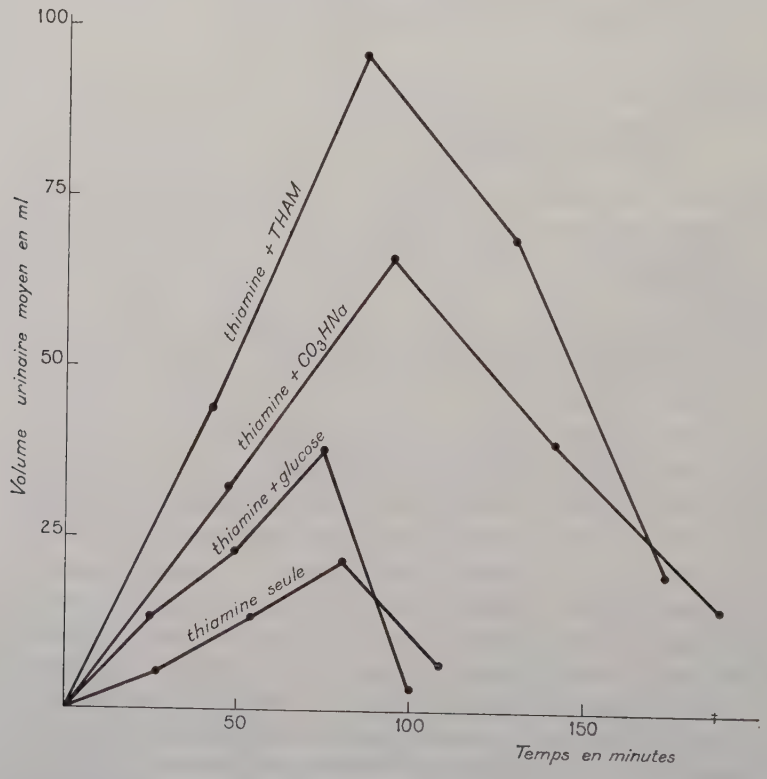

FIGURE 8

Variations, en fonction du temps, des diurèses moyennes observées au cours des différentes perfusions de solutions de thiamine chez le lapin

• Courbes de diurèse :

Pour chaque groupe de lapins, les variations de la diurèse moyenne, au cours de la perfusion, sont rapportées sur la *figure 8*. Les constatations suivantes en découlent :

— les courbes obtenues ont le même aspect quelle que soit la nature de la solution injectée : augmentation, maximum, diminution brutale. Le blocage rénal est évident dans tous les cas ;

— la diurèse maximale est :
variable dans son importance,
invariable dans son temps de survenue.

Classées par ordre d'importance croissante, les diurèses obtenues correspondent respectivement à la perfusion des solutions A, B, C et D. La diurèse maximale survient, dans tous les cas, 85 minutes environ après le début de la perfusion.

• Excrétion de la thiamine :

Seule l'élimination urinaire de la thiamine libre à l'exclusion de toute forme phosphorylée est envisagée ici. C'est en effet le seul dérivé thiaminique physiologiquement présent dans l'urine. Son excrétion, rapportée sur le *Tableau VIII*, est parallèle au volume urinaire émis. Elle passe par un maximum puis diminue brutalement : à ce moment, sa concentration urinaire est la plus grande, le volume urinaire étant faible.

Tableau VIII

SOLUTION Composition des solutions à 10 g/100 ml de thiamine perfusée	A Thiamine pure	B Thiamine + Glucose 5 g/100 ml	C Thiamine + CO_3HNa 4,59 g/100 ml	D Thiamine + THAM 4,6 g/100 ml
Quantité moyenne urinaire de thiamine en g	2,1	3,2	3,3	5,5
Volume urinaire total moyen en ml	48,6	77	150	254,5
Concentration urinaire moyenne en g/100 ml	4,3	4,1	2,2	2,1
Osmolalité des solutions en milli osmoles/kg eau	664	1006	1520	1134

• Ionogrammes urinaires :

Ils suivent les fluctuations de la diurèse et n'ont pas été rapportés ici.

Modifications qualitatives :

Sous ce terme, on entend l'apparition d'éléments anormaux dans l'urine. La diminution de la diurèse s'accompagne d'un changement d'aspect de l'urine : de claire et limpide, elle devient trouble. Apparaissent :

— protéinurie, cylindrurie ;
— hémoglobinurie inconstante, plus fréquente lors de perfusions des solutions A et B ;
— cocarboxylase : forme diphosphorylée de la thiamine, normalement réabsorbée au niveau tubulaire, jamais retrouvée physiologiquement dans l'urine.

* *

Quelle que soit la solution perfusée, le blocage rénal survient de façon constante quatre-vingt-dix minutes environ après le début de la perfusion.

D'autre part, au moment de la mort des animaux, les quantités de thiamine retrouvées au niveau des reins sont identiques et plus grandes que celles de tous les autres tissus analysés. Tous ces faits concordent pour affirmer l'accumulation rénale de thiamine chez le lapin, le blocage survenant après perfusion d'une dose d'environ 6 g par kg.

Les diurèses moyennes de chaque groupe de lapins sont très différentes, les solutions A et B provoquant des diurèses relativement faibles, les solutions C et D provoquant des diurèses beaucoup plus importantes. Pour tenter d'expliquer ces différences, deux hypothèses peuvent être invoquées : il est possible que ces variations soient dues à des effets diurétiques différents des solutions perfusées ou, au contraire, qu'il existe lors de l'administration des solutions A et B un facteur supplémentaire de toxicité rénale, indépendant de l'action propre de la thiamine.

On peut constater sur le *Tableau VIII*, qu'à osmolarités voisines, la perfusion de la solution B entraîne une diurèse deux fois moins importante que celle produite par perfusion de la solution C. D'autre part, dans le cas des solutions A et B, diurèses obtenues et pressions osmotiques des solutions perfusées sont, entre elles, dans un rapport constant.

Il est donc évident que les différences de diurèse constatées ne s'expliquent pas par des osmolarités variables selon la nature des solutions perfusées. Il semble probable que lors des perfusions des

solutions A et B, un facteur supplémentaire de toxicité rénale survienne : l'acidité de ces solutions, par opposition à la neutralité des autre, semble en être la cause. Il est important de constater que si l'on admet un effet toxique rénal dû à l'acidité des perfusions réalisées, les conséquences peuvent se manifester d'emblée comme le suggèrent les courbes de diurèses obtenues. Dans quelle mesure cette toxicité ne peut-elle pas survenir également chez l'homme où, selon le protocole de DE CASTRO, la thiamine est perfusée en solution non neutralisée, type B ? Il est impossible actuellement de répondre à cette question. Il paraît toutefois vraisemblable que lorsque la thiamine est injectée par voie intra-veineuse à dose faible non neutralisée, elle est très vite tamponnée par les différents systèmes tampons physiologiques plasmatiques et globulaires. Dans ces conditions, on peut supposer que cet effet toxique rénal ne survient pas. Il semble cependant opportun de contre-indiquer chez l'homme toute anesthésie thiaminique chez les sujets en état d'insuffisance rénale.

La comparaison des diurèses obtenues avec les solutions C et D, rapportées à leurs osmolarités, indiquent que l'action diurétique de la solution D ne s'explique que partiellement par son pouvoir osmotique. Ce résultat confirme les travaux de NAHAS [74]. Selon cet auteur, l'effet diurétique du trishydroxyméthylaminométhane est la somme de deux effets indépendants, une diurèse osmotique et un effet propre au niveau du tube distal.

C) Tissulaires

- CERVEAU :

Les taux de noradrénaline et 5-OHtryptamine mesurés dans les cerveaux entiers des rats soumis, selon le protocole précédemment décrit, à des injections intra-veineuses de doses différentes de thiamine, sont rapportés sur le *Tableau IX*.

TABLEAU IX

Doses de thiamine injectées en mg/kg	Témoin	100	200	500
Noradrénaline en µg/g cerveau M ± 2 Sm	0,32 ± 0,12	0,27 ± 0,08	0,28 ± 0,10	0,28 ± 0,10
5 Hydroxytryptamine en µg/g cerveau M ± 2 Sm	0,78 ± 0,15	0,75 ± 0,11	0,66 ± 0,18	0,69 ± 0,16

Aucune modification significative de ces taux n'a été observée. On peut en conclure que dans les conditions expérimentales retenues, l'injection intra-veineuse de doses de 100, 200 et 500 mg par kg de thiamine ne modifie pas les taux cérébraux de noradrénaline et de 5-hydroxytryptamine.

- Cœur :

Le *Tableau X* rapporte les taux moyens de noradrénaline cardiaque de rats ayant reçu différentes doses de thiamine.

Tableau X

Doses injectées de thiamine en mg/kg	Témoin	100	200	500
Taux moyen de Noradrénaline cardiaque en µg/g (M ± 2 Sm)	0,52 ± 0,32	0,98 ± 0,15	0,98 ± 0,15	1,04 ± 0,12

Bien que l'on observe régulièrement des taux plus élevés de noradrénaline cardiaque chez les animaux traités par la thiamine que chez les témoins, les différences ne sont jamais significatives. Il faut signaler d'autre part que les auteurs qui utilisent cette technique indiquent chez les témoins des taux de noradrénaline cardiaque de 1,04 ± 0,10 µg/g.

Rapporté à une action centrale éventuelle, le fait que les taux de noradrénaline et de 5-hydroxytryptamine cérébrales ne soient pas modifiés par l'injection de fortes doses de thiamine, suggère que cette substance n'a pas d'action neuroleptique, type réserpine. Au contraire, ces résultats sont plutôt en faveur d'une action anesthésique générale [30].

Les taux de noradrénaline cardiaque observés après injection de doses croissantes de thiamine sont toujours plus élevés que ceux des témoins. Ce résultat semble pouvoir s'expliquer par le mode de contention des animaux : les rats témoins sont en effet extrêmement agités pendant l'expérience et la diminution observée semble pouvoir être rapportée au stress. Les rats qui reçoivent la thiamine sont curarisés et ne se débattent pas pendant l'expérience. On ne peut affirmer qu'il existe une action s'opposant aux effets du stress, mais les taux de noradrénaline cardiaque sont identiques à ceux signalés par Shore et Olin [84] et obtenus chez des animaux tués par décapitation.

CHAPITRE II

Principaux effets pharmacologiques de la thiamine

Les effets pharmacologiques de la thiamine au niveau du système cardio-vasculaire, de la plaque motrice, du système nerveux central et du tractus digestif ont été observés et discutés.

Première partie

ACTION CARDIO-VASCULAIRE DE LA THIAMINE

I) L'action cardiaque de la thiamine

Les données de la littérature à ce sujet peuvent être regroupées en deux parties, l'une relative à l'effet propre de la thiamine sur le cœur, l'autre relative aux modifications des effets de l'acétylcholine qu'elle entraîne.

A) Effet propre de la thiamine

1) Action inotrope :

Les principaux travaux consacrés à l'étude de cette action inotrope ont utilisé le cœur isolé de grenouille, préparé selon la méthode de Straub, maintenu en survie par apport d'un volume déterminé de liquide nutritif, de composition variable selon les auteurs.

Les résultats publiés ayant été longtemps contradictoires, c'est à Kaiser [55] d'abord, à Jackson et Wald [51] ensuite, que revient le

mérite d'avoir clarifié le problème en mettant en évidence le rôle fondamental du pH de la solution de thiamine utilisée :

— en milieu acide : 4,5 < pH < 6 à 17°C, la thiamine entraîne aux doses de 0,2 et 2 mg * une action inotrope négative d'importance croissante, la dernière dose provoquant l'arrêt cardiaque ;

— en milieu neutre : 6 < pH < 7,6 à 17°C, la thiamine n'a aucune action cardiaque propre.

Les divergences de résultats constatées dans la littérature s'expliquaient ainsi par des différences de pH d'application de la thiamine et par des pouvoirs tampons différents des solutions nutritives utilisées. A un pouvoir tampon fort correspond une absence d'effet cardiaque, la thiamine ajoutée ayant été neutralisée [51]. A un pouvoir tampon faible correspond un effet inotrope négatif.

Une autre difficulté technique provient du fait que le cœur neutralise en partie les solutions acides appliquées à son niveau. Pour éviter des variations de pH le plus souvent faibles mais quelquefois importantes, JACKSON et WALD [51] ont décrit un système de perfusion continue où débit, température et pH de la solution thiaminique sont maintenus rigoureusement constants.

Les caractéristiques de l'action inotrope négative observée sont les suivantes :

— elle n'est pas antagonisée par l'atropine [51]. Seuls AGID et BALKANYI [2] ont trouvé une action suppressive de l'atropine mais seulement dans 50 % des cas, vis-à-vis d'une seule dose : 0,02 mg de thiamine.

L'atropine étant inactive, un mécanisme cholinergique est difficilement concevable ;

— elle est reproduite en partie par une solution de Ringer, ajustée au même pH, mais sans thiamine [51]. L'acidité semble donc rendre compte d'une partie de l'effet inotrope négatif observé.

La thiamine en solution aqueuse n'est stable qu'en milieu acide de pH < 6. L'acidité, en stabilisant la forme active, permet l'action cardiaque propre de la thiamine mais lui ajoute l'effet d'un pH bas.

2) ACTION CHRONOTROPE :

Parallèlement à l'action inotrope négative, l'action chronotrope négative de la thiamine a pu être mise en évidence sur l'animal entier, principalement chez le chien [85, 86]. Les conditions d'administration

---

* Les doses indiquées correspondent à la quantité de thiamine ajoutée dans 2 ml de liquide nutritif, qu'il s'agisse des données de la littérature ou des résultats personnels.

parentérale, 100 mg par kg, par voie intra-veineuse, sont telles qu'on peut supposer que l'injection de thiamine n'a provoqué aucune modification du pH plasmatique des animaux. Il s'agit donc là d'un effet pharmacologique survenant à des doses fortes, en milieu neutre.

B) Modification par la thiamine des effets de l'acétylcholine

Les principaux travaux réalisés ont étudié les modifications, sur le cœur isolé de grenouille, de l'effet ionotrope négatif de l'acétylcholine par la thiamine en solution acide ou neutralisée :

— si la solution est acide, les effets s'ajoutent ;

— si la solution est neutralisée, les effets s'opposent : la thiamine, à la dose de 2 mg (dépourvue d'action propre), bloque l'effet dépresseur d'une dose efficace d'acétylcholine si les deux substances sont administrées simultanément [32, 51].

Les principales caractéristiques de cet antagonisme ont été décrites par Laser [61] et ont amené cet auteur à conclure à sa non-spécificité :

— l'antagonisme est fonction de la quantité de thiamine administrée ;

— des doses d'acétylcholine supérieures à 1 μg ne sont plus influencées par la thiamine ;

— d'autres substances parasympathomimétiques, inhibées par l'atropine, le sont également par la thiamine ;

— d'autres substances thiazoliques ont la même action.

Cet antagonisme semble pouvoir constituer un mécanisme physiologique. Von Muralt [94], reprenant la célèbre expérience d'Otto Loewi, a pu démontrer que la stimulation vagale libère dans le liquide de perfusion du cœur deux substances : l'acétylcholine et un composé contenant de la thiamine, de façon spécifique et simultanée. Le rôle éventuel de la thiamine dans la médiation chimique vagale au niveau du cœur chez la grenouille n'a pu encore être précisé avec certitude.

EXPÉRIENCES RÉALISÉES

Le travail réalisé a un double but, décrire les actions cardiaques des fortes doses de thiamine administrées au lapin et tenter de préciser leurs mécanismes.

La première partie comprend :

— l'étude des variations des tracés E.C.G. au cours des différentes perfusions de thiamine réalisées ;

— la comparaison sur le cœur isolé de lapin, selon la méthode de Langhendorff, des actions des fortes doses de thiamine à différents pH et à des solutions nutritives de même pH.

La deuxième partie tente de mettre en évidence un mécanisme cholinergique éventuel de l'action cardiaque de la thiamine en solution acide recherché chez la grenouille avec la méthode de Straub.

PROTOCOLES EXPERIMENTAUX

• Cœur de lapin « in vivo » :

Les expériences réalisées ont suivi le protocole déjà décrit au *Chapitre I.*

• Cœur isolé de lapin :

Les effets des quatre solutions de thiamine : A, B, C et D déjà décrites, sur le cœur isolé de lapin préparé selon la méthode de Langhendorff [60], ont été mesurés et comparés à ceux de solutions sans thiamine, ajustées aux mêmes pH.

La technique consiste à introduire une canule dans l'aorte d'un cœur isolé de lapin, sans passer les valvules sigmoïdes et à perfuser ainsi à contre-courant les artères coronaires par un liquide nutritif oxygéné, à température 37°C et débit constants. Le réseau coronaire est ainsi irrigué dans des conditions proches des conditions physiologiques. Les solutions utilisées sont injectées dans le liquide de perfusion. Les battements cardiaques (rythme et amplitude) ont été enregistrés à l'aide d'une serre-fine placée à la pointe du cœur et reliée par un fil et un système de poulies à un stylet inscripteur.

La composition du liquide de survie est la suivante :

— Chlorure de sodium	9 g
— Chlorure de potassium	0,42 g
— Chlorure de calcium	0,24 g
— Carbonate acide de sodium	0,15 g
— Glucose	1 g
— Eau distillée q.s.p.	1.000 ml

• Cœur isolé de grenouille :

Il est préparé selon la méthode de Straub :

Une canule est introduite dans le ventricule en passant par l'aorte commune et en forçant les valvules sigmoïdes. La survie est assurée par un liquide nutritif introduit dans cette canule, irriguant le ventricule

et changé fréquemment. C'est par cette voie que sont introduites, en solution dans ce liquide, les substances administrées. Les oreillettes n'étant pas habituellement irriguées, seule l'action ventriculaire peut être mesurée. Les battements cardiaques (rythme et amplitude) ont été enregistrés à l'aide d'un fil fixé à la pointe. Le liquide nutritif a la composition suivante :

— Chlorure de sodium	6,5 g
— Chlorure de potassium	0,14 g
— Chlorure de calcium	0,12 g
— Phosphate disodique	0,02 g
— Carbonate acide de sodium	0,3 g
— Eau distillée q.s.p.	1.000 ml

L'expérience se déroule à la température du laboratoire, 20°C ± 2.

Les caractéristiques principales de l'action inotrope négative de la thiamine ont été déterminées de la façon suivante ; deux doses de thiamine ont été choisies au préalable :

— l'une provoquant une diminution d'amplitude de 20 % ;

— l'autre provoquant l'arrêt cardiaque.

La première a été appliquée pendant deux minutes, 10 fois consécutives, un lavage abondant étant réalisé entre chaque administration, dix minutes de repos séparant deux applications consécutives.

Sur d'autres préparations, une éventuelle modification des effets de la thiamine a été recherchée par administration de doses croissantes d'atropine (sulfate) ou de prostigmine avant, après ou en même temps que la thiamine.

La dose provoquant l'arrêt cardiaque a été administrée dans le but de mettre en évidence un phénomène d'échappement vagal comparable à celui qui survient lors de l'application d'une forte dose d'acétylcholine.

Ces deux types de doses ont enfin été administrés à des préparations soumises à des doses d'acétylcholine provoquant soit une action inotrope négative d'environ 50 %, soit une action provoquant l'arrêt cardiaque. L'administration de thiamine a été réalisée :

— Avant : précédant de trente secondes celle de l'acétylcholine.

— Simultanément.

— Après :

a) trente secondes après, dans le cas d'un effet inotrope négatif de l'acétylcholine ;

b) au moment de l'échappement cardiaque dans le cas de l'administration de fortes doses.

Chaque détermination a été répétée 6 fois sur des préparations différentes.

RESULTATS

1) Etude des tracés électrocardiographiques du lapin au cours des perfusions de thiamine [12] :

a) *Solution de thiamine :*

Une bradycardie notable est apparue pour des doses de thiamine voisines de 4 g par kg. On observe en outre :

— une disparition progressive et précoce des ondes P (5 cas);
— des modifications du complexe rapide :
  — élargissement, 2 cas ;
  — microvoltage, 3 cas ;
  — rotation axiale, 2 cas ;
— des troubles de la repolarisation :
  — T plat, 2 cas ;
  — sous-dénivellation de ST, 4 cas.

Chez un des lapins, la seule modification observée a été une bradycardie s'accentuant jusqu'à l'arrêt cardiaque.

b) *Solution de thiamine + glucose :*

Une bradycardie notable apparaît dans les mêmes conditions que précédemment. On observe les modifications suivantes :

— l'onde P n'est jamais modifiée ;
— le voltage de QRS augmente constamment ;
— des modifications du complexe rapide :
  — élargissement, 1 cas ;
  — rotation axiale droite, 1 cas ;
— l'onde T est toujours augmentée dans son voltage et tend à devenir symétrique ;
— le segment ST reste peu modifié.

Chez un des lapins, des extrasystoles monomorphes sont apparues.

c) *Solution de thiamine + CO_3HNa :*

La bradycardie survient plus tardivement. On observe de plus :

— des troubles constants de la repolarisation, évoquant une hypokaliémie très importante, aux doses de 4 à 8 g par kg ;
— une disparition de l'onde P : 3 cas ;
— une dissociation auriculo-ventriculaire : 3 cas. Dans ces cas, le voltage de QRS augmente avant la disparition terminale ;
— une rotation axiale gauche : 2 cas.

d) *Solution de thiamine + THAM :*

La vitesse d'apparition de la bradycardie n'est pas modifiée. On observe :

— des troubles constants de la repolarisation ;
— une disparition de l'onde P : 1 cas ;
— une rotation axiale (1 droite et 1 gauche) : 2 cas.

2) Cœur isolé de lapin :

a) *Effet inotrope négatif :*

L'administration de fortes doses de thiamine en solution pure, glucosée ou neutralisée soit par le carbonate acide de sodium, soit par le THAM, produit toujours lorsque la dose est suffisante, une action inotrope négative. Elle ne survient qu'au-delà d'une certaine dose, l'effet étant alors proportionnel à la dose administrée. Seuil et intensité d'action sont variables selon la nature des solutions utilisées (*fig. 9*).

b) *Variations d'effet en fonction du pH d'application :*

Les effets obtenus se répartissent en deux groupes différents, selon le pH des solutions administrées.

1° Solutions acides : $2{,}5 < pH < 3{,}5$ à 20°C.

Les solutions pure et glucosée de thiamine ont sensiblement les mêmes effets. Les doses moyennes sont les suivantes :

— Dose seuil : 2 mg.
— Dose provoquant l'arrêt cardiaque : 20 mg.

L'effet d'une solution acide de pH : 3,5 sans la thiamine a été comparé à ces résultats (*fig. 10*). Cette solution produit des résultats variables :

— aucune action, 2 cas ;
— effet inotrope négatif, 4 cas.

Cette action propre de l'acidité est inconstante ; lorsqu'elle survient, elle est toujours inférieure à l'action que produit la dose seuil de thiamine au même pH.

2° Solutions neutralisées : $7 < pH < 7{,}6$ à 20°C.

Les deux types de solutions neutralisées ont sensiblement les mêmes effets, quantitativement moins importants que ceux des solutions acides (*fig. 10*).

— Dose seuil : 5 mg.
— Dose provoquant l'arrêt cardiaque : 45 mg.

Une solution sans thiamine ajustée à pH 7,40 n'a aucun effet cardiaque.

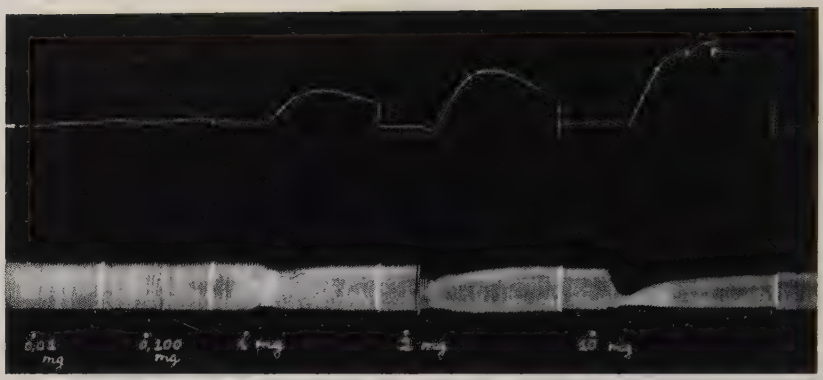

FIGURE 9

Action de doses croissantes de thiamine sur le cœur isolé de lapin

Partie supérieure : débit coronaire. Partie inférieure : enregistrement des battements cardiaques. Les chiffres indiqués représentent les quantités administrées de thiamine non neutralisée.

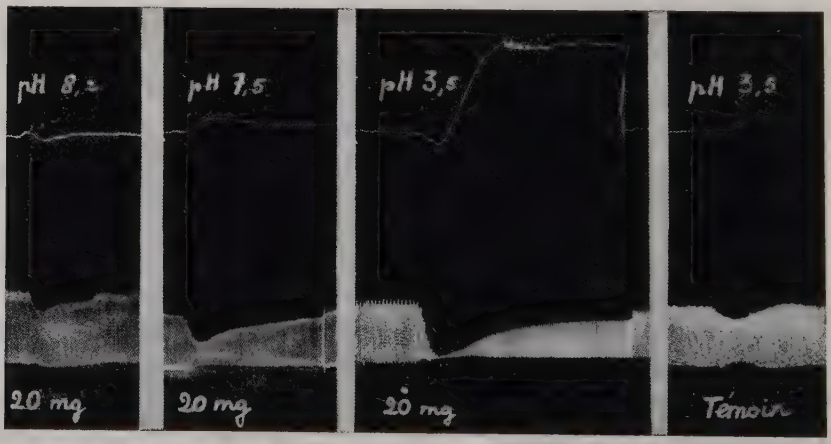

FIGURE 10

Influence du pH sur l'action de la thiamine sur le cœur isolé de lapin

Partie supérieure : débit coronaire. Partie inférieure : enregistrement des battements cardiaques. Les chiffres indiqués représentent les quantités de thiamine :
— pH 8,2 et 7,5 : ajustement du pH des solutions avec CO_3HNa ;
— pH 3,5 : solution pure ;
— témoins : liquide de survie amené à pH 3,5 par addition de HCl, N/10.

3° Solutions alcalines : pH 8,2 à 20°C.

Une solution de thiamine ajustée à ce pH a été essayée. Une dose de 20 mg administrée dans ces conditions n'a provoqué qu'un faible effet inotrope négatif d'environ 10 %, transitoire et réversible.

Les doses d'environ 20 mg de thiamine, tant en solution acide que neutralisée, ont des effets inotropes négatifs partiellement réversibles sur le cœur isolé de lapin, l'amplitude après action ne revenant jamais au niveau initial.

3) Cœur isolé de grenouille :

a) *Effet propre de la thiamine :*

1° Administrations de doses croissantes de thiamine.

Les effets des doses suivantes 0,2, 2 et 20 mg sont inscrits sur la *figure 11*. Ces quantités sont dissoutes dans le liquide nutritif et correspondent respectivement aux pH d'application suivants : 7,5, 5,2 et 4,5 à 20°C.

La dose de 0,2 mg produit régulièrement une action inotrope positive discrète, ce qui correspond aux résultats de Jackson et Wald [51]. Les doses plus importantes (2 et 20 mg) provoquent respectivement une action inotrope négative d'environ 50 % et l'arrêt cardiaque, résultats identiques à ceux des auteurs précités.

2° Administrations répétées de doses identiques de thiamine.

Une dose de 2 mg a été administrée à pH : 5,2, 10 fois consécutives au même cœur. Un exemple des résultats obtenus est présenté sur la *figure 12*.

L'action de la thiamine n'est que partiellement réversible par lavage. Après administration d'une seule dose de 2 mg produisant un effet inotrope négatif net, on peut observer au cours des lavages successifs, une augmentation d'amplitude des battements cardiaques par rapport au niveau initial. On peut supposer que la thiamine se fixant sur le myocarde, des lavages énergiques neutralisent l'acidité de la solution appliquée et éliminent la plus grande part de la thiamine fixée. On se trouve ainsi placé dans les conditions d'administration d'une dose moins importante appliquée en milieu neutre. Dans ces conditions, l'action inotrope positive a été observée.

3° Dose provoquant l'arrêt cardiaque.

Une dose de 20 mg de thiamine appliquée à pH 4,5 à 20°C provoque l'arrêt cardiaque. Il n'a jamais été observé de phénomène d'échappement comparable à celui qui survient après administration d'une forte dose d'acétylcholine.

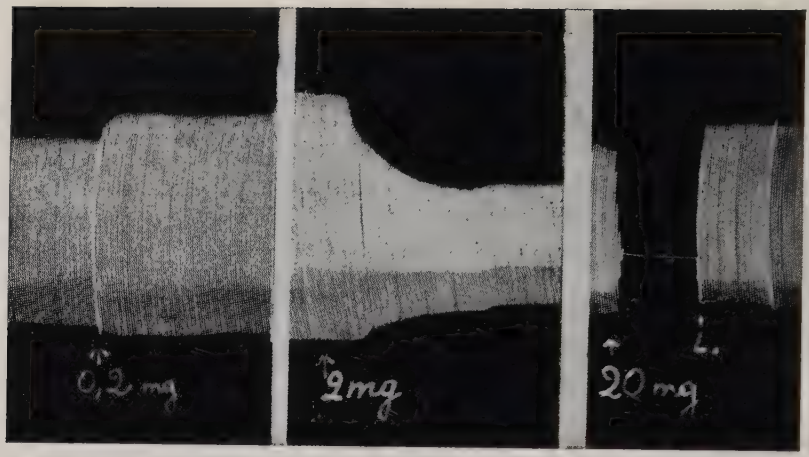

FIGURE 11

Effets de doses croissantes de thiamine sur le cœur isolé de grenouille

Les doses indiquées correspondent à la quantité de thiamine ajoutée dans les 2 ml de liquide de survie. En L, lavages répétés.

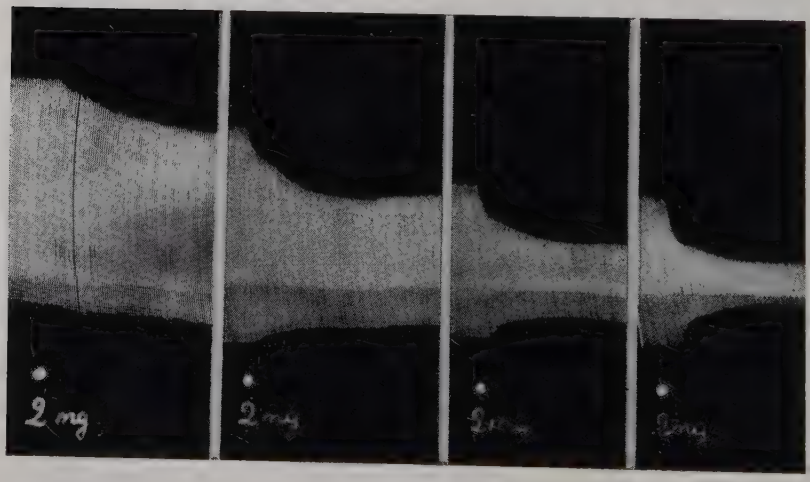

FIGURE 12

Effets de l'administration, répétée dix fois, d'une même dose (2 mg) de thiamine sur le cœur isolé de grenouille

De gauche à droite : premier, troisième, sixième et dixième effet.

4° Spécificité de l'action inotrope négative.

Des doses croissantes de sulfate d'atropine jusqu'à 10 µg (seuil de l'effet propre de cette substance) administrées avant, en même temps ou après la thiamine, n'ont jamais modifié l'effet d'une dose de 2 mg de thiamine à pH : 5,2.

Dans les mêmes conditions, des doses croissantes de néostigmine jusqu'à 500 µg ont été sans effet.

La thiamine exerce donc, au niveau du cœur, un effet qui lui est propre, différent d'une action cholinergique.

b) *Interactions de la thiamine et de l'acétylcholine :*

1° Administrations simultanées.

— En milieu acide : les effets de doses inotropes négatives de ces deux produits s'additionnent, c'est le cas par exemple avec l'association de thiamine : 2 mg + acétylcholine : 0,02 µg.

— En milieu neutre : on note un antagonisme, les effets inotropes de l'acétylcholine étant supprimés par des doses de thiamine qui, dans ces conditions, sont légèrement inotropes positives par elles-mêmes. C'est le cas par exemple avec :

— 0,2 mg de thiamine ;

— 0,02 µg d'acétylcholine.

2° Administrations séparées.

La dose de 0,2 mg de thiamine appliquée à pH : 7,5 a été administrée trente secondes avant ou après des doses variables d'acétylcholine, provoquant seule soit une action inotrope négative nette, soit l'arrêt cardiaque. La thiamine n'a en rien modifié les effets de ces doses. De plus, administrée au moment du phénomène de l'échappement du cœur à une dose bloquante d'acétylcholine, elle n'en a pas modifié le déroulement.

DISCUSSION

De ces différents résultats, il ressort que les fortes doses de thiamine exercent un effet cardiaque propre. Il porte à la fois sur le rythme et l'amplitude des battements cardiaques qu'il déprime.

— Le pH d'application de la thiamine modifie l'intensité de cette action. Il semble qu'à l'effet propre de la thiamine s'ajoute celui d'un pH bas.

— Le mécanisme de l'action cardiaque de la thiamine ne semble pas cholinergique. Il a été montré d'autre part au chapitre I que le taux de noradrénaline cardiaque n'était pas modifié de façon significative par la thiamine.

— A cette action propre s'ajoutent, lors des perfusions de thiamine chez le lapin, une hyperkaliémie nette et une surcharge hydrique importante, aggravées par le blocage rénal.

Il est curieux de constater que l'hyperkaliémie n'a pas de traduction électrocardiographique. Elle est cependant suffisamment importante pour que l'on puisse invoquer une cause supplémentaire de toxicité au niveau du cœur.

II) Effets tensionnels des fortes doses de thiamine chez le chien

L'effet tensionnel d'une substance est la résultante de deux effets principaux, cardiaque et vasculaire. La thiamine développe à doses fortes des actions cardiaques, chronotrope et inotrope négatives et une action ganglioplégique [21, 94] responsable par blocage du tonus vasculaire sympathique, d'une vaso-dilatation importante. Ces deux effets permettent de prévoir que de fortes doses de thiamine administrées par voie intra-veineuse provoquent une chute tensionnelle. Smith et coll. [85] l'ont constaté sur le chien chloralosé, en respiration assistée, à des doses de 50 à 2.000 mg par kg. Cette action est, selon eux, une action « curare like ». Après administration intraveineuse, l'hypotension obtenue est contemporaine du blocage neuromusculaire chez le chien, apparaissant et disparaissant avec les effets curarisants et reproduisant exactement les effets obtenus, chez le même animal, par l'injection intra-veineuse d'une dose convenablement choisie de d-tubo-curarine. L'hypotension obtenue à la suite de l'injection de fortes doses de curare s'explique classiquement par deux mécanismes principaux [39] :

— une libération d'histamine ;

— un blocage ganglionnaire.

Le deuxième mécanisme semble le plus probable ou tout au moins le plus important quantitativement dans la genèse de l'hypotension thiaminique. Selon Yamamoto et coll. [95], elle explique l'hypotension que provoque chez le chien des doses faibles de thiamine, de 5 à 30 mg par kg. Dans le but de vérifier que ce même mécanisme survient également aux doses plus fortes : 100, 150, 200 et 500 mg par kg, leurs effets tensionnels ont été mesurés et analysés sur le chien chloralosé.

PROTOCOLES EXPERIMENTAUX

Le protocole a été décrit au chapitre I, ces chiens ayant également servi à l'étude métabolique précédemment rapportée.

Un vague a été sectionné chez les deux premiers chiens. Le bout distal a été stimulé pendant dix secondes avec un courant faradique de voltage variable selon les chiens, choisi pour qu'il entraîne une hypotension brève et nette.

Les quatre autres chiens ont été bivagotomisés. Ils ont reçu en outre une injection intra-veineuse de sulfate d'atropine : 2 mg par kg avant l'étalonnage initial, dose qui a été répétée avant chacune des perfusions de thiamine.

Les différents réactifs pharmacologiques ont été injectés dans l'ordre et aux doses suivantes avant puis après chaque perfusion de thiamine :

— Adrénaline (ClH) 1, 2, 5 μg par kg.
— Noradrénaline (bitartrate) 1, 2, 5 μg par kg.
— Acétylcholine à deux doses différentes, l'une muscarinique : 5 μg par kg, l'autre nicotinique variant, selon les chiens, de 300 à 800 μg par kg.
— La thiamine a été perfusée en solution aqueuse pure à 10 % au rythme de 2 ml par minute, aux doses successives suivantes :
  — chiens n^{os} I et II : 100, 150 et 200 mg par kg ;
  — chiens n^{os} III, IV, V, VI : 100, 150, 200, 500 et 200 mg par kg.

  La manœuvre dite « d'occlusion des carotides » a été réalisée en pinçant pendant dix secondes la carotide non canulée.

RESULTATS

Les résultats suivants ont été observés (la *figure 13* représentant un exemple).

L'administration de thiamine entraîne une *hypotension* constante, d'intensité proportionnelle à la dose perfusée. Cette hypotension est transitoire, durant environ quarante minutes après les deux premières administrations, se prolongeant plus longtemps après les dernières perfusions.

1) L'effet presseur de l'adrénaline :

La potentialisation de cet effet est considérable :

— en intensité.
  La potentialisation maximale est obtenue après la première administration de thiamine, c'est-à-dire une dose de 100 mg par kg.
— en durée.
  L'hypertension obtenue est de plus en plus longue, après administration de doses croissantes de thiamine, le retour à la normale nécessitant environ quatre minutes après la dose de 500 mg par kg.

2) L'EFFET PRESSEUR DE LA NORADRÉNALINE :

Cet effet est potentialisé de la même manière, en intensité puis en durée, mais à un degré moindre, le retour à la normale nécessitant environ une minute après la dose de 500 mg par kg.

3) L'OCCLUSION CAROTIDIENNE :

Elle produit une réponse hypertensive nette, avant toute perfusion. Des doses croissantes de thiamine diminuent fortement cette réponse sans pourtant jamais l'annuler.

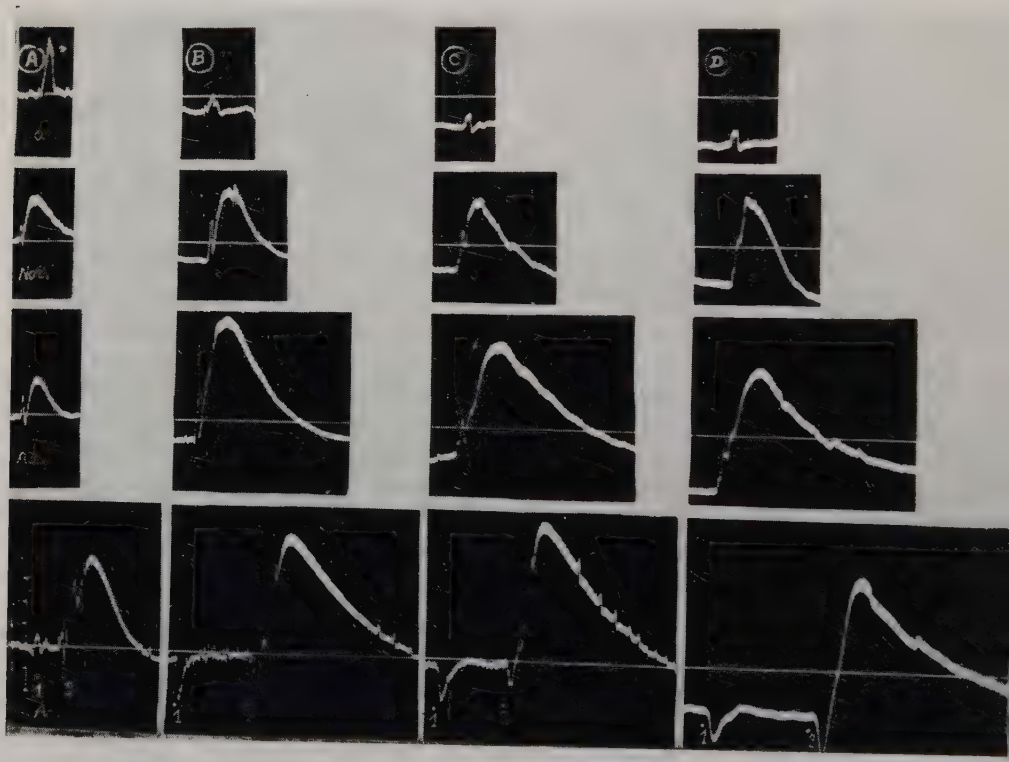

FIGURE 13

Chien n° V : atropine, bivagotomie, respiration assistée.
Modifications des effets tensionnels de : l'occlusion carotidienne (OC), la noradrénaline (Nor) 1 μg par k, l'adrénaline (Ad) 1 μg par kg et l'acétylcholine 1 : 5 μg par kg ; 2 : 500 μg par kg.
De gauche à droite : avant puis après perfusion de 100, 200 et 500 mg par kg de thiamine.
Une minute = 1 centimètre.

4) La stimulation vagale :

Observés chez les deux premiers chiens, les effets de la stimulation vagale ont été complètement abolis dès la première perfusion de thiamine.

5) Effets de l'acétylcholine :

L'action hypotensive d'une dose muscarinique d'acétylcholine est :
— potentialisée chez les deux premiers chiens après les perfusions de thiamine ;
— supprimée chez les chiens atropinés avant tout apport de thiamine. Dans ce cas, elle réapparaît après perfusion de thiamine.

L'action nicotinique de l'acétylcholine est potentialisée par la thiamine. Chez les chiens non atropinés, les deux phases hypo et hypertensive sont également augmentées. Sous atropine, la thiamine fait réapparaître la phase primaire hypotensive et potentialise la phase hypertensive qui lui fait suite.

Tous les effets décrits sont transitoires après les deux premières administrations de thiamine. Ils cessent dès que l'hypotension disparaît. Les dernières administrations entraînent une hypotension durable avec des modifications permanentes des effets pharmacologiques observés.

DISCUSSION

1) Effet ganglioplégique et hypotension :

La potentialisation des effets de l'adrénaline, de la noradrénaline, des effets muscarinique et nicotinique de l'acétylcholine, le blocage des effets de la stimulation vagale et de l'occlusion carotidienne sont en rapport avec l'action ganglioplégique de la thiamine. Ces effets sont fugaces ; leur cinétique est identique à celle de l'hypotension, ce qui semble indiquer une relation causale entre effet ganglioplégique et hypotension.

Il a déjà été signalé que, chez le chien atropiné, après hexaméthonium, une dose nicotinique d'acétylcholine provoque une hypotension [48]. Ce phénomène, commun à tous les ganglioplégiques, se retrouve aussi dans les mêmes conditions expérimentales, avec la thiamine. Il faut y voir une preuve supplémentaire de la réalité de l'effet ganglioplégique de cette substance.

Smith et coll. ont montré que l'action hypotensive et l'action curarisante de la thiamine ont la même cinétique. Ils en déduisent que l'hypotension est due à un effet « curare like ». En fait, la thiamine

possède des effets ganglioplégiques et curarisants de cinétiques comparables, mais c'est à l'effet ganglioplégique qu'il faut rattacher l'hypotension et non au blocage de la jonction neuro-musculaire.

La thiamine exerce au niveau de la jonction neuro-musculaire des effets cumulatifs qui se retrouvent au niveau des ganglions. Ceci explique que l'hypotension, transitoire après la première perfusion de thiamine, soit de très longue durée après la dernière. Les demi-vies plasmatiques calculées confirment ce phénomène, la durée de vie étant d'environ une heure (36 minutes × 2) et chaque administration suivant l'autre à trente minutes d'intervalle environ. Le rythme d'administration est donc tel dans ces expériences que la substance ne peut entièrement s'éliminer entre deux perfusions et qu'il en reste au début d'une nouvelle perfusion environ la moitié de la quantité initiale.

2) Thiamine et acétylcholine injectées :

a) *L'acétylcholine à dose muscarinique :*

Sous atropine à dose efficace, la thiamine fait apparaître l'effet muscarinique de l'acétylcholine. Ce fait troublant semble difficilement expliquable actuellement. On peut imaginer deux hypothèses :

— la thiamine est un antagoniste de l'atropine au niveau des récepteurs cholinergiques. Il faudrait cependant admettre que la thiamine déplace l'atropine de ces récepteurs, mais qu'elle peut être déplacée à son tour par l'acétylcholine ;

— la thiamine facilite l'action de l'acétylcholine.

Les propriétés anticholinestérasiques des fortes doses de thiamine ont déjà été invoquées pour expliquer des mécanismes analogues [68].

D'autres hypothèses seront envisagées plus loin.

b) *L'acétylcholine à dose nicotinique :*

La thiamine chez le chien atropiné fait apparaître une hypotension importante précédant la phase hypertensive. L'apparition d'une phase hypotensive peut s'expliquer par les hypothèses invoquées au paragraphe précédent. Des phénomènes du même type ont déjà été décrits avec l'hexaméthonium [48].

Deuxième partie

L'ACTION DE LA THIAMINE A LA JONCTION NEURO-MUSCULAIRE

I) L'action curarisante de la thiamine

C'est en 1938 que les propriétés curarisantes des fortes doses de thiamine ont été pour la première fois mises en évidence par DEMOLE [36] chez le rat. Depuis, de nombreux auteurs, CHEYMOL et coll. [28] en particulier, ont décrit cette action chez d'autres espèces animales et précisé son mécanisme.

A) Mise en évidence de l'action curarisante

L'utilisation d'une préparation neuro-musculaire soumise à des doses convenablement choisies de thiamine, permet de mettre en évidence :
— la suppression des effets moteurs de la stimulation nerveuse ;
— la conservation des effets moteurs obtenus par stimulation musculaire directe ;
— la conservation de la conduction nerveuse.

L'action curarisante a été étudiée chez les espèces suivantes :

- LE RAT :

Sur des préparations nerf sciatique-muscle tibial antérieur [18] et sur des préparations nerf phrénique-diaphragme, soit *in vitro* [44], soit *in vivo* [18].

- LE LAPIN :

Sur des préparations nerf sciatique-muscles tibial antérieur et soléaire [16, 28].

- LE CHAT :

Sur des préparations nerf sciatique-muscles tibial antérieur et soléaire [28].

- LE CHIEN :

Sur des préparations nerf sciatique-muscle des orteils [86].

- LA POULE :

Sur des préparations nerf sciatique-muscle tibial antérieur [11].

- LA GRENOUILLE :

Sur des préparations nerf sciatique-muscle gastrocnémien [47, 19, 76].

En outre, la thiamine entraîne une paralysie flasque chez le pigeon [73] et chez le poussin [11].

B) Doses actives de thiamine

Les doses curarisantes obtenues chez le rat, le lapin et la poule par Boissier et coll. [11] sont indiquées sur le *Tableau XI*. Elles représentent les doses moyennes nécessaires pour obtenir une curarisation de 100 % du muscle tibial antérieur. La neutralisation de la solution de thiamine n'entraîne que peu de modifications de la curarisation lorsque l'on utilise le trishydroxyméthylaminométhane, mais entraîne par contre une diminution très nette, aussi bien du degré de curarisation que du temps de décurarisation si la neutralisation est réalisée avec du carbonate acide de sodium.

Tableau XI

Espèce animale	Dose moyenne provoquant une curarisation de 100 %	Limites de sensibilité individuelle
Rat	450 mg par kilo	300 - 600
Lapin	250 mg par kilo	80 - 450
Poule	280 mg par kilo	200 - 320

C) Mécanisme de l'action curarisante

L'action curarisante de la thiamine présente un certain nombre de caractères qui permettent de la classer parmi les substances curarimimétiques :

— la paralysie est progressive sans phase de fasciculation ni potentialisation de la contraction maximale ;
— le muscle paralysé par la thiamine ne peut soutenir un tétanos ;
— il existe par répétition des doses une augmentation de la sensibilité : pour obtenir un même effet, il faut administrer des doses de plus en plus faibles ;
— la paralysie est rapidement antagonisée par l'ésérine ou la néostigmine ;
— le muscle tibial antérieur du lapin (muscle blanc) est généralement moins touché par la thiamine que le muscle soléaire (muscle rouge) ;
— chez l'oiseau, le pigeon ou le poussin, l'injection intra-veineuse de thiamine entraîne une paralysie flasque de tous les muscles.

Cependant de nombreux auteurs [19, 20, 27, 44] ont signalé que de faibles concentrations : 10^{-6}, 10^{-7} de thiamine entraîne le phénomène inverse, c'est-à-dire la potentialisation de la contraction musculaire obtenue. Quand la concentration augmente, 10^{-4}, 10^{-3}, le blocage des contractions musculaires survient selon les modalités précédemment décrites.

D) Cinétique de l'action curarisante selon les muscles

L'action curarisante se déroule, au niveau musculaire, en quatre phases successives : hypotonie, atonie de Bremmer, paralysie de Vulpian, enfin paralysie de Claude Bernard. La vitesse et l'intensité du blocage musculaire provoqué par un curare sont variables selon les muscles considérés. Chez l'homme, il est classique d'admettre que la paralysie atteint successivement : muscles de la face : releveurs des paupières, muscles du globe oculaire, muscles des membres supérieurs puis inférieurs, muscles abdominaux, muscles intercostaux, langue, glotte et enfin diaphragme. On admet généralement que cette chronologie de l'action curarisante est toujours la même, quel que soit le type de curare utilisé. Chez l'animal, les phénomènes semblent différents. Sur le lapin, Boissier et coll. [16] ont pu en effet montrer que cette succession d'atteintes musculaires ne se retrouve qu'avec les curares acétylcholinomimétiques. Pour les autres, acétylcholinocompétitifs, l'atteinte diaphragmatique est plus précoce que l'atteinte des muscles striés périphériques. Comparant en fonction du temps, l'intensité de curarisation du diaphragme et du muscle tibial antérieur obtenue avec différentes substances de ce groupe, ces auteurs ont constaté que :

— l'atteinte diaphragmatique est précoce, intense et fugace ;
— l'atteinte du muscle tibial antérieur est plus tardive, moins intense, plus durable.

La thiamine à doses curarisantes, bloque le diaphragme avant le muscle tibial antérieur du lapin. Elle se comporte ainsi comme toutes les autres substances acétylcholinocompétitives étudiées. Chez l'homme, aucune précision n'a été fournie quant à l'action de ce type de curare : on n'atteint jamais en pratique chirurgicale le stade de la paralysie de Claude Bernard étudiée en pharmacologie par Boissier et coll. Il semble cependant que l'on doive admettre que les deux types de curare ont des cinétiques d'action différentes sur les différents groupes musculaires.

II) Etude des modalités de l'action curarisante de la thiamine sur les différents muscles

Dans le but de rechercher si les caractéristiques de la paralysie diaphragmatique observée chez le lapin avec la thiamine, se retrouvaient chez d'autres espèces animales, le protocole expérimental suivi par BOISSIER et coll. [16] a été repris chez le rat.

La technique utilisée a déjà été décrite [17]. Elle permet de réaliser un enregistrement simultané des contractions d'un muscle tibial antérieur et du diaphragme sous l'influence de la stimulation de leurs nerfs moteurs.

La thiamine, en solution aqueuse à 10 %, a été injectée aux doses de 100 ou 200 mg par kg à 6 rats. Les degrés de curarisation obtenue du diaphragme et du tibial antérieur sont indiqués sur le *Tableau XII*.

TABLEAU XII

Rats N°	Dose de thiamine en mg par kilo	Degré de curarisation obtenue en %	
		Diaphragme	Tibial antérieur
1	100	100	0
2	100	100	10
3	200	90	20
4	200	100	70
5	200	100	80
6	200	100	60

L'action curarisante est donc quantitativement plus grande au niveau du diaphragme que du muscle tibial antérieur. La curarisation du diaphragme précède d'autre part légèrement celle du tibial antérieur, mais disparaît beaucoup plus rapidement.

On peut ainsi conclure de cette expérience que l'effet curarisant de la thiamine est, chez le rat, plus précoce, plus marqué et plus fugace sur le diaphragme que sur le tibial antérieur. Cette observation est identique à celle faite dans les mêmes conditions, chez le lapin.

Ces modalités de la paralysie diaphragmatique, mises en évidence chez le rat, se retrouvent également chez le lapin et le chat avec

différentes substances curarimimétiques : d-tubocurarine et triiodométhylate de gallamine [15] en particulier. On peut donc admettre que ce groupe de curare, administré par voie veineuse, atteint les muscles de l'animal dans un ordre différent de celui décrit classiquement. La paralysie diaphragmatique, intense et précoce, peut être considérée comme un des facteurs de toxicité de la thiamine, une dépression respiratoire complète pouvant s'établir sans qu'il existe de curarisation clinique très importante des muscles périphériques.

Troisième partie

THIAMINE ET EFFET ANALGESIQUE

En anesthésiologie, les fortes doses de thiamine semblent exercer un effet analgésique puisque, selon DE CASTRO, il est possible de réaliser avec cette seule substance, des anesthésies satisfaisantes « et pour le malade et pour le chirurgien ». En fait, dans la majorité des cas rapportés, cet auteur semble avoir adjoint à la thiamine, un analgésique puissant.

Expérimentalement, la thiamine ne développe à faibles doses aucun effet analgésique chez l'animal [63]. Aux doses fortes, un tel effet existe peut-être mais il n'a pu être mis en évidence. La curarisation empêche en effet d'objectiver une action analgésique éventuelle, interdisant l'emploi des tests classiques d'analgésie basés sur l'observation de réactions motrices déclenchées par un stimulus douloureux. Le phénomène dit de l'hypertension algique ne peut être utilisé : les ganglioplégiques bloquent la réponse tensionnelle à la stimulation du nerf sciatique ; la thiamine aux doses utilisées développe une action ganglioplégique importante. Une méthode reste théoriquement utilisable : l'étude des potentiels d'action des nerfs moteurs mis en jeu dans la réponse à un stimulus douloureux. BOISSIER et coll. [10, 13] ont réalisé cette expérience chez le rat soumis à des doses croissantes de thiamine : 500, 1.000 et 1.500 mg par kg, administrées par voie intra-veineuse. Le blocage de la réponse électrique aux stimuli douloureux, mécaniques et électriques est total aux doses supérieures à 1.000 mg par kg. Mais ce phénomène s'observe également chez le rat spinal, ce qui permet de supposer qu'il s'agit au moins en partie d'une action périphérique.

Trois modes d'action sont alors possibles :

— une baisse de sensibilité des récepteurs nociceptifs. Le protocole expérimental de ces auteurs permet de l'éliminer ;

— une action cellulaire, qu'il s'agisse d'une action située au niveau des cellules nerveuses ou de leurs prolongements. CHAUCHARD [26]

a en effet montré que de fortes doses de thiamine sont capables de bloquer la conduction nerveuse ;

— une action bloquante au niveau de toutes les synapses. C'est d'ailleurs une telle action, « synaptolytique », qu'invoque DE CASTRO pour expliquer les résultats qu'il a obtenus chez l'homme, les actions ganglioplégique et curarisante en étant des modalités.

Il est difficile cependant, sur ces résultats, d'affirmer une action analgésique des fortes doses de thiamine.

Une autre action pharmacologique de la thiamine peut théoriquement expliquer les effets constatés chez l'homme par DE CASTRO [33]. Cette substance, sans action analgésique propre, potentialiserait l'action des analgésiques. Ainsi pourrait s'expliquer la technique d'anesthésie actuellement préconisée par cet auteur, associant thiamine et fentanyl. Expérimentalement, d'autre part, MARCY et DAVY [66] ont pu constater que l'action analgésique de l'acide acétylsalicylique était potentialisée par la thiamine.

Cette possibilité a été reprise expérimentalement avec deux analgésiques centraux : le fentanyl et la morphine associés à des doses non curarisantes de thiamine.

Méthodes utilisées

DOSES, MODES ET TEMPS D'ADMINISTRATION

Thiamine et analgésiques ont été administrés chez trois espèces animales : la souris, le rat et le cobaye. Les analgésiques ont été administrés à plusieurs doses dont une inactive ou peu active et une autre entraînant une analgésie nette.

La thiamine a été administrée :

— par voie intra-péritonéale, chez les trois espèces animales, aux doses de 62,5 ; 125 et 250 mg par kg, trente minutes avant la mesure ;

— par voie intra-veineuse, chez la souris, aux doses de 25, 50 et 75 mg par kg, quinze minutes avant la mesure.

Le fentanyl a été administré par voie sous-cutanée, cinq minutes avant la mesure, aux doses de :

— chez la souris : 0,0875 et 0,175 mg par kg ;

— chez le rat : 0,010, 0,025 et 0,050 mg par kg ;

- - chez le cobaye : 0,010 et 0,050 mg par kg.

La morphine (chlorhydrate) a été administrée par voie sous-cutanée, quarante-cinq minutes avant la mesure, aux doses de :

— chez la souris : 1,5, 5 et 10 mg par kg ;

— chez le rat : 1 et 5 mg par kg ;

— chez le cobaye : 1 et 2,5 mg par kg.

MESURES ET EFFETS ANALGESIQUES

• Souris :

L'effet analgésique a été mesuré par la méthode d'Eddy et coll. [42], modifiée par Jacob et Szerb [52]. Elle consiste à placer une souris sur une plaque de métal maintenue à température constante, 70°C, et à mesurer le temps qui s'écoule avant le premier lèchement des pattes antérieures considéré comme la première réaction de l'animal à une sensation calorique douloureuse.

• Rat :

L'effet analgésique a été mesuré par la méthode de Janssen et coll. [54]. Elle consiste à tremper la partie distale de la queue (cinq derniers centimètres) d'un rat dans de l'eau chauffée à 55°C et à mesurer le temps au bout duquel le rat retire sa queue. Des cages particulières sont utilisées à cet effet où le rat est maintenu, sa queue étant placée à l'extérieur par l'intermédiaire d'un trou suffisamment large pour permettre le mouvement.

• Cobaye :

L'effet analgésique a été mesuré par la méthode de Radouco-Thomas et coll. [80]. Cette méthode consiste à percer les bords latéraux externes des deux incisives centrales, à mi-hauteur, de deux trous fins d'environ 0,5 mm de profondeur, permettant de mettre en contact la pulpe dentaire avec un circuit de stimulation électrique par l'emploi d'électrodes appropriées. Le forage des dents a lieu la veille de l'expérience.

On détermine ensuite pour chaque animal, par essais successifs, le voltage, seuil nécessaire pour obtenir, avec un courant rectangulaire (40 impulsions de 5 millisecondes par seconde, 3 ou 4 excitations de 0,5 seconde appliquées toutes les 3 minutes), une réaction nette de l'animal, soit de protrusion de la langue, soit de redressement de la tête. On détermine ce voltage avant et après administration des différentes drogues.

Résultats

Ils sont rapportés sur les *Tableaux XIII, XIV, XV, XVI.* On y note que :

— la thiamine n'a aucun effet analgésique propre, aux doses et chez les trois espèces animales étudiées ;

— chez le cobaye et le rat, aucune modification par la thiamine des effets analgésiques de la morphine et du fentanyl n'a été observée ;

Fentanyl µg/kg (T : - 5 minutes)	Morphine mg/kg (T : - 45 minutes)	Temps de léchage (moyenne en secondes ± Sm)			
		Sans Thiamine	Après thiamine		
			25 mg/kg	50 mg/kg	75 mg/kg
0	0	4,7 ± 0,2	4,5 ± 0,2	4,1 ± 0,4	4,0 ± 0,5
87,5	0	5,6 ± 0,3	6,0 ± 0,8	6,2 ± 0,5	7,4 ± 0,5
175	0	8,5 ± 0,5	10,4 ± 0,7	11,7 ± 0,6	13,6 ± 0,5
0	1	6,0 ± 0,6	6,0 ± 0,6	5,9 ± 0,6	5,3 ± 0,6
0	5	6,2 ± 0,2	7,0 ± 0,3	8,9 ± 0,5	10,4 ± 0,7
0	10	11,9 ± 1	15,3 ± 1,3	12,6 ± 0,9	13,6 ± 1,4

TABLEAU XIII

Influence de la thiamine administrée par voie intraveineuse (au temps — 15 minutes) sur l'action analgésique du fentanyl et de la morphine chez la souris. Chaque chiffre représente la moyenne de 10 animaux (sauf témoins : 50 animaux)

Fentanyl µg/kg (T : - 5 minutes)	Morphine mg/kg (T : - 45 minutes)	Temps de léchage (moyenne en secondes ± Sm)			
		Sans Thiamine	Après thiamine		
			62,5 mg/kg	125 mg/kg	250 mg/kg
0	0	4,3 ± 0,2	4,0 ± 0,1	4,2 ± 0,2	3,8 ± 0,2
87,5	0	5,0 ± 0,5	5,6 ± 0,5	9,3 ± 0,9	6,7 ± 0,6
175	0	8,4 ± 1,3	8,9 ± 1,3	19,5 ± 3,0	16,9 ± 3,0
0	1	5,6 ± 0,4	5,7 ± 0,4	6,2 ± 0,5	7,0 ± 0,6
0	5	7,4 ± 0,9	8,0 ± 0,6	10,3 ± 1,0	10,4 ± 1
0	10	10,0 ± 0,6	14,5 ± 2,1	17,0 ± 2,1	19,0 ± 3,2

TABLEAU XIV

Influence de la thiamine administrée par voie intrapéritonéale (au temps — 30 minutes) sur l'action analgésique du fentanyl et de la morphine chez la souris. Chaque chiffre représente la moyenne de 10 animaux (sauf témoins : 50 animaux)

Fentanyl µg/kg (T : - 5 minutes)	Morphine mg/kg (T : - 45 minutes)	Temps de réaction (moyenne en secondes ± Sm)			
		Sans Thiamine	Après thiamine		
			62 mg/kg	125 mg/kg	250 mg/kg
0	0	4,5 ± 0,4	4,6 ± 0,6	4,7 ± 0,6	4,2 ± 0,5
10	0	5,0 ± 0,3	4,0 ± 0,4	5,0 ± 0,4	5,0 ± 0,4
25	0	12,0 ± 0,8	9,0 ± 0,9	13 ± 1,1	13 ± 1,1
50	0	15,0 ± 1,4	14,7 ± 2	12,0 ± 1,6	13 ± 1,6
0	1	6,3 ± 0,8	5,8 ± 0,4	6,7 ± 0,7	7,2 ± 0,5
0	5	12,0 ± 0,8	13,5 ± 0,8	8,5 ± 1,1	16,8 ± 2,6

TABLEAU XV

Influence de la thiamine administrée par voie intrapéritonéale (au temps — 30 minutes) sur l'action analgésique du fentanyl et de la morphine chez le rat
Chaque chiffre représente la moyenne de 8 animaux (sauf témoins : 40 animaux)

Fentanyl µg/kg (T : - 5 minutes)	Morphine mg/kg (T : - 45 minutes)	Voltage seuil (moyenne en volts ± Sm)			
		Sans Thiamine	Après thiamine		
			62 mg/kg	125 mg/kg	250 mg/kg
0	0	1,9 ± 0,3	1,8 ± 0,3	2,5 ± 0,5	1,8 ± 0,4
10	0	3,1 ± 0,7	3,0 ± 0,8	3,3 ± 0,6	3,2 ± 0,6
50	0	4,8 ± 0,9	3,5 ± 1,1	4,1 ± 1,2	2,6 ± 1,6
0	1	2,8 ± 0,4	2,8 ± 0,4	2,6 ± 0,5	2,9 ± 0,6
0	2,5	4,2 ± 0,7	4,3 ± 0,6	5,3 ± 0,8	3,8 ± 1,0

TABLEAU XVI

Influence de la thiamine administrée par voie intrapéritonéale (au temps — 30 minutes) sur l'action analgésique du fentanyl et de la morphine chez le cobaye
Chaque chiffre représente la moyenne de 8 animaux (sauf témoins : 40 animaux)

— dans certaines expériences chez la souris, on observe que l'effet des analgésiques est significativement augmenté par l'adjonction de thiamine. Cette action n'est pas régulièrement retrouvée et ne semble pas proportionnelle à la dose de thiamine.

Discussion

Chez l'homme, les doses de fentanyl utilisées par DE CASTRO sont importantes et la thiamine joue certainement un rôle en antagonisant certains effets secondaires végétatifs non souhaités de l'analgésie (par ses propriétés ganglioplégiques).

Existe-t-il une potentialisation par la thiamine de l'effet analgésique du fentanyl ? Il est très difficile de l'affirmer. Certes, il n'est jamais possible d'obtenir sous l'influence d'un analgésique employé seul, un état permettant une intervention chirurgicale. Mais il est possible de penser que la thiamine, en antagonisant les effets secondaires du fentanyl, permet d'utiliser des doses plus fortes de cet analgésique sans observer d'effets secondaires.

Quatrième partie

L'ACTION DE LA THIAMINE SUR L'ILEON ISOLE

Si de nombreux travaux rendent compte de l'action expérimentale de la thiamine sur le tractus digestif, il est cependant bien difficile de résumer les effets observés tant les résultats publiés semblent contradictoires. Il apparaît d'emblée que l'action de cette substance est essentiellement variable, non seulement selon l'espèce animale et les doses utilisées, mais encore à doses égales, avec leurs temps d'application. La thiamine, à doses faibles, n'agit qu'après un certain temps de latence, de quelques minutes au minimum, et l'on conçoit ainsi que selon la technique utilisée et plus particulièrement le temps d'application retenu, certains auteurs ont pu déceler une action là où d'autres n'en ont pas observée. Tous les travaux ont été effectués sur des fragments isolés d'intestin, prélevés à des niveaux différents du tractus digestif, dont on enregistre les contractions selon la méthode de Magnus. Les liquides nutritifs retenus sont de compositions voisines, voire identiques, pour une même espèce animale.

A) Action propre de la thiamine

- **Sur le cobaye :**

Erspamer [74], puis Dufait [41] sur le duodénum, Tanzi [89] sur l'iléon, n'ont pas noté d'action à des concentrations croissantes de 10^{-8} à 10^{-3}.

- **Sur le lapin :**

Rodrigues-Cardoso [81] et Sanz Sanchez [82] notent une action dépressive sur l'intestin ; elle apparaît à la concentration de 10^{-5} et est d'autant plus nette que la concentration est plus forte.

- **Sur le rat :**

Aux fortes concentrations, supérieures à 10^{-5}, la thiamine provoque une chute du tonus intestinal, immédiate et d'autant plus grande que la concentration est plus forte [8].

Aux faibles concentrations, inférieures à 10^{-5}, Andral et Blaizot [6] ont observé une augmentation d'amplitude des mouvements péristaltiques sans modification du tonus. Cette action n'est pas immédiate mais ne survient qu'après un temps de contact prolongé du fragment d'intestin avec la substance.

Parallèlement, Kohler et Barbe [57] ont constaté que l'effet d'une dose d'acétylcholine sur l'intestin isolé de rat est augmenté si l'on a au préalable administré des doses répétées d'adrénaline. La thiamine ou la cocarboxylase administrées au cours de ces expériences, après adrénaline, quelques minutes avant l'acétylcholine, provoque une augmentation considérable des effets de cette dernière bien supérieure à l'augmentation qu'apporte l'adrénaline seule.

B) Modifications des effets de l'acétylcholine par la thiamine

1) Potentialisation et inhibition des effets de l'acétylcholine :

Selon les doses de thiamine administrées, on obtient deux types d'action ; à dose faible, les effets de l'acétylcholine ajoutée sont potentialisés : l'amplitude de la contraction est augmentée. A dose forte, ils sont inhibés : l'amplitude de la contraction est diminuée. La potentialisation n'est pas immédiate, un contact d'au moins quelques minutes de la thiamine avec le fragment d'intestin étant nécessaire ; elle ne se produit qu'à la deuxième ou troisième addition d'acétylcholine. L'inhibition au contraire est immédiate. De nombreux auteurs ont décrit

ces phénomènes au niveau de l'intestin isolé de rat : Minz [69]; Abderhalden [1]; Agid, Beauvallet et Minz [3]; Andral et Blaizot [4]; Bayo, Holmdahl et Gautier [8].

Il est à noter que des phénomènes du même ordre ont été observés sur le muscle dorsal de sangsue.

2) Mécanismes d'action possibles :

De nombreuses hypothèses ont été proposées. Une interaction spécifique de la thiamine dans le mécanisme cholinergique de commande intestinale a été le plus souvent invoquée [6]. Cependant, Bayo, Holmdahl et Gautier [8] contestent cette spécificité.

a) *Potentialisation des effets de l'acétylcholine :*

— Par synthèse de cocarboxylase : la thiamine n'agit pas par elle-même mais après transformation en dérivé diphosphorylé, la cocarboxylase. La production d'énergie cellulaire en est accrue, augmentant la réponse à l'acétylcholine. Ainsi s'explique, selon Minz [70], la latence constatée de la potentialisation cholinergique. Cette hypothèse a été réfutée par Andral et Blaizot [4] qui ont retrouvé la même latence de potentialisation cholinergique pour la thiamine et la cocarboxylase. D'autre part, si l'on recommence ces expériences avec un liquide nutritif sans phosphates, la potentialisation cholinergique par la thiamine survient toujours, mais beaucoup plus lentement. Or, la phosphorylation est un mécanisme rapide qui ne peut expliquer cette latence supplémentaire.

— Par inhibition des acétylcholinestérases tissulaires : cette hypothèse, envisagée par divers auteurs [41, 58, 67, 68], est en opposition avec les résultats de Bayo, Holmdahl et Gautier qui ont constaté la persistance de l'action thiaminique après inhibition complète des cholinestérases par le diisopropylfluorophosphate ou l'ésérine.

— Par augmentation de la quantité d'acétylcholine active : depuis les travaux de Corteggiani [31], on sait en effet que lorsque l'on ajoute dans un bain d'organe isolé une certaine quantité d'acétylcholine, seule une fraction de celle-ci agit directement, la part restante étant fixée par le tissu où il est possible de la doser. Andral et Blaizot [4, 5] considèrent que la thiamine agit par augmentation de la quantité d'acétylcholine présente aux niveaux des récepteurs spécifiques.

Deux mécanismes sont théoriquement possibles :

— augmentation de la synthèse tissulaire d'acétylcholine, cette possibilité permettant d'expliquer la latence de l'action thiaminique ;
— augmentation de la fraction active de l'acétylcholine ajoutée.

Cette hypothèse rendrait compte des résultats de Corteggiani : elle pose cependant le problème de l'implication physiologique d'un tel

phénomène réalisé « in vitro » avec des doses d'acétylcholine supérieures aux doses libérées par la stimulation nerveuse.

b) *Inhibition des effets cholinergiques par la thiamine :*

Selon Dufait [41], il s'agit là d'une action caractéristique de la thiamine, spécifique de la fonction ammonium quaternaire. Pour cet auteur, la thiamine, en raison de son analogie structurale avec l'acétylcholine, pourrait se fixer sur les récepteurs cholinergiques, empêchant fixation et action de l'acétylcholine.

Bayo, Holmdahl et Gautier [8] ont montré cependant que cette inhibition n'est pas spécifique de la thiamine, mais se retrouve aussi avec des molécules pyrimidiques ou thiazoliques. La thiamine d'autre part diminue, à fortes doses, les contractions obtenues avec des substances spasmogènes non cholinergiques du type chlorure de baryum. Il s'agirait donc d'un effet propre différent d'un processus anticholinergique.

En résumé, il semble que l'on puisse distinguer deux types d'action de la thiamine sur le tractus digestif :

— à faible dose, une action propre, transitoire et fugace, augmentant le tonus des fibres et l'amplitude des mouvements péristaltiques allant de pair avec une augmentation de l'amplitude des contractions provoquées par l'acétylcholine. Ces deux actions ne sont pas immédiates et ne se produisent qu'après lavages répétés. Elles sont de même sens ;

— à forte dose, une action dépressive propre allant de pair avec une diminution de l'amplitude des contractions provoquées par l'acétylcholine. Ces deux actions sont immédiates et de même sens.

Pour expliquer ces deux types d'action, deux mécanismes différents sont principalement invoqués :

— un effet pharmacologique propre, spasmolytique à forte dose ;

— une interaction de la thiamine dans les mécanismes cholinergiques, potentialisant les effets de l'acétylcholine, à faible dose.

APPORT EXPÉRIMENTAL

C) Action propre de la thiamine et modifications des effets de l'acétylcholine sur l'iléon isolé de cobaye

PRINCIPE

L'ensemble des propriétés précédemment décrites de la thiamine n'a pu être mis en évidence que sur l'intestin isolé de rat et sur un autre type de muscle lisse, non digestif, le muscle dorsal de sangsue. Byer

[23] n'a pu les reproduire sur l'intestin isolé de cobaye ou de lapin. Il en a déduit logiquement qu'il s'agissait apparemment d'une action limitée, particulière à certaines espèces animales, sans signification générale. Il paraît cependant difficile d'admettre cette conclusion basée sur des expériences ne reproduisant qu'imparfaitement la méthodologie d'ANDRAL et BLAIZOT [6]. L'étude expérimentale rapportée ici a consisté à reprendre les conditions opératoires de ces auteurs sur une espèce animale avec laquelle l'action de la thiamine n'avait pu être mise en évidence par BYER.

PROTOCOLE EXPERIMENTAL

— Préparation de l'iléon de cobaye et montage :

Un fragment d'iléon d'environ 2 cm de longueur est prélevé rapidement après sacrifice d'un cobaye. Il est immédiatement placé dans une solution nutritive réchauffée à 37°C. A chacune de ses extrémités sont attachés deux fils par une boucle latérale ne fermant pas la lumière intestinale.

Le fragment d'iléon est ensuite placé dans un appareil dit « à organe isolé », de température constante : 37°C, contenant 25 ml de liquide nutritif parcouru par un courant d'air de débit constant assurant une oxygénation convenable du milieu. Un dispositif placé à la partie inférieure de l'appareil permet la vidange et l'apport de solution nutritive.

Une extrémité de l'iléon est solidement fixée à la partie inférieure de l'appareil, le fragment baignant complètement dans la solution. L'autre extrémité est accrochée par l'intermédiaire du fil précédemment disposé, à un stylet inscripteur en contact avec un cylindre revêtu d'une feuille de papier recouverte de noir de fumée. La composition du liquide nutritif est la suivante :

— Chlorure de sodium	8 g
— Chlorure de potassium	0,2 g
— Chlorure de calcium anhydre	0,1 g
— Chlorure de magnésium	0,1 g
— Carbonate acide de sodium	1 g
— Phosphate disodique	0,025 g
— Glucose	1 g
— Eau distillée (q.s.p.)	1.000 ml

pH : 7,45 à 37°C

Après montage, l'iléon est laissé au repos pendant environ vingt minutes, temps nécessaire à la stabilisation de la préparation. Celle-ci est vérifiée par :

— un tonus musculaire de repos constant, donnant en l'absence de tout réactif pharmacologique, un tracé horizontal sur le cylindre enregistreur ;
— des amplitudes de contraction identiques pour des doses égales, répétées d'acétylcholine.

Chaque dose est introduite dans le bain, laissée en contact une minute et est éliminée par lavage.

La préparation est ensuite étalonnée par des doses croissantes d'acétylcholine, administrées et éliminées comme précédemment. Les doses de thiamine et d'acétylcholine administrées sont exprimées en concentration obtenue dans le bain nutritif.

MESURES EFFECTUEES

1) Effet de la thiamine seule :

Les doses étudiées vont de 10^{-12} à 10^{-3}. Elles ont été mises en contact avec l'iléon pendant des temps différents : trente secondes pour observer l'effet immédiat, quatre-vingt-dix minutes pour observer l'effet tardif. Dans le premier cas, la thiamine a été introduite dans le bain en y versant quelques gouttes d'une solution aqueuse très concentrée. Dans le deuxième cas, elle a été directement dissoute dans la solution nutritive utilisée pour baigner et laver le fragment d'iléon, le renouvellement de la solution étant effectué toutes les deux minutes. L'effet de chaque dose a été étudié deux fois sur deux préparations différentes.

2) Modifications des effets de l'acétylcholine par prétraitement thiaminique :

Le même protocole que précédemment a été suivi, l'acétylcholine étant ajoutée dans le premier cas, trente secondes après la thiamine sans lavage intermédiaire, dans le deuxième cas toutes les dix minutes après la mise en contact du fragment d'iléon avec le bain nutritif contenant la thiamine.

L'effet de chaque dose a été étudié deux fois sur deux préparations différentes.

3) Résultats obtenus :

a) *Effets de la thiamine sur l'iléon isolé de cobaye :*

Effet immédiat : il est nul jusqu'à 10^{-5}. Les concentrations plus grandes produisent une chute de tonus d'importance croissante.

Effet tardif : aucune action importante n'a été observée aux concentrations inférieures à 10^{-12}.

A 10^{-10} et 10^{-8} :

— latence de 4 et 6 minutes, puis :
— reprise des contractions spontanées des iléons auparavant stables ;
— augmentation de l'amplitude de ces contractions ;
— augmentation du tonus de base ;
— arrêt des mouvements péristaltiques et retour au tonus de base primitif, 30 et 36 minutes après les débuts d'expérience, bien que l'iléon baigne toujours dans une solution de thiamine fréquemment renouvelée.

A 10^{-6} :

— mêmes phénomènes mais moins intenses.

A 10^{-5} :

— chute du tonus de base après un certain temps de latence.

A 10^{-4} et 10^{-3} :

— chute immédiate du tonus, proportionnelle aux doses.

b) *Modifications des effets de l'acétylcholine par prétraitement thiaminique :*

Effet immédiat : les doses de thiamine sans effet propre, de 10^{-12} à 10^{-6}, n'ont entraîné aucune modification des effets de l'acétylcholine ajoutée. A 10^{-5}, une diminution de la réponse de l'iléon à l'acétylcholine a été observée.

Effet tardif : il est rapporté sur les *figures 14* et *15*. Deux types d'action surviennent, une potentialisation aux faibles concentrations, un antagonisme aux fortes concentrations, l'action s'annulant à 10^{-4} et s'inversant à 10^{-3}.

— La potentialisation des effets de l'acétylcholine est maximale à 10^{-8} où elle représente 5 fois l'effet initial de l'acétylcholine.
— Elle a été mesurée après cessation des mouvements spontanés dus à l'action propre de la thiamine, c'est-à-dire après 45 minutes.
— Elle est restée constante jusqu'à la fin de l'expérience.
— L'inhibition des effets de l'acétylcholine est immédiate, proportionnelle aux doses croissantes de thiamine supérieures à 10^{-4}.

DISCUSSION

L'absence d'effet propre, immédiat de la thiamine sur l'iléon isolé de cobaye est conforme aux conclusions de Tanzi et montre toute l'importance du temps d'application de la substance sur l'organe isolé.

Les modifications tardives observées sont identiques à celles décrites par Andral et Blaizot sur l'intestin de rat. Elles sont en opposition avec celles de Byer dont le protocole expérimental exact, non précisé, semble se rapprocher de celui de Tanzi.

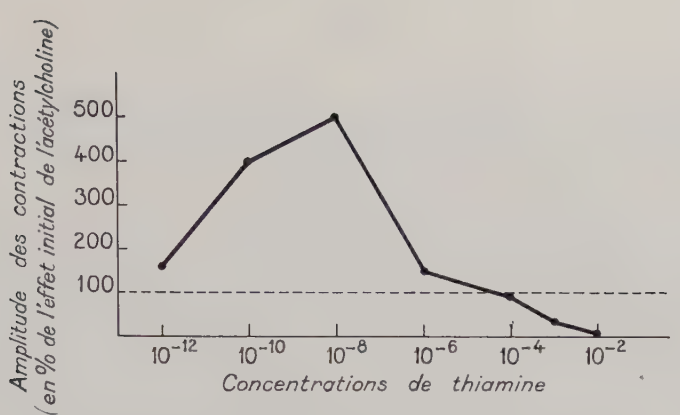

FIGURE 14

Variations des effets d'une dose d'acétylcholine (10^{-8}) sur l'iléon isolé de cobaye, en fonction de la concentration du bain en thiamine

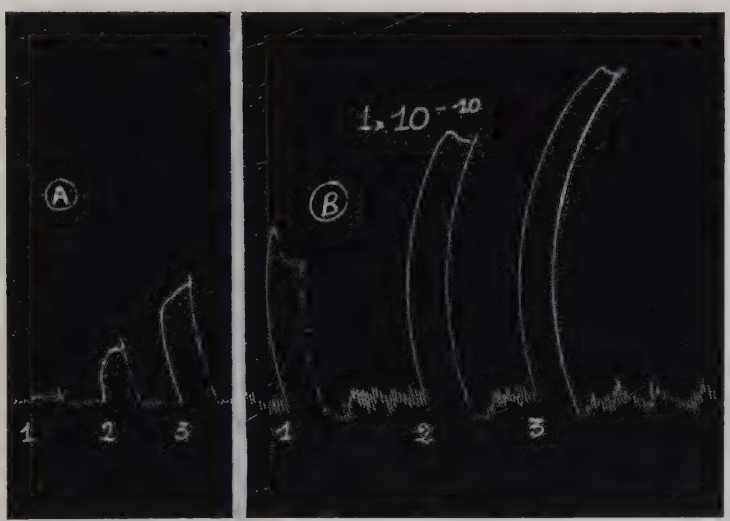

FIGURE 15

Modifications des effets de trois doses d'acétylcholine (1 : 0,5 . 10^{-8} ; 2 : 1 . 10^{-8} ; 3 : 2 . 10^{-8}) par addition préalable de thiamine (concentration : 1 . 10^{-10} ; contact : 45 minutes)

A : avant thiamine ; B : après thiamine

Les deux types d'actions de la thiamine modifiant les effets de l'acétylcholine sont identiques à ceux déjà décrits chez le rat.

Le premier type d'action peut être discuté sous deux aspects. ANDRAL et BLAIZOT, parallèlement à leurs études sur la thiamine, ont décrit le phénomène d'auto-sensibilisation de l'intestin isolé à l'acétylcholine [5]. Lorsque l'on administre des doses répétées d'acétylcholine, l'effet produit par une même dose augmente considérablement, pouvant atteindre deux fois l'effet initial de cette dose. Ce phénomène a également été retrouvé sur l'iléon de cobaye où il est quantitativement moins important, l'effet maximum d'auto-sensibilisation observé étant égal à une fois et demi l'effet initial. Cette variation n'explique en rien l'importante potentialisation observée à 10^{-5} et l'on peut ainsi affirmer qu'il s'agit là d'un phénomène de potentialisation important dû à la thiamine.

Il est plus difficile de le rapporter à une concentration déterminée de cette substance. ANDRAL et BLAIZOT ont en effet montré que la thiamine se fixait énergiquement sur l'intestin isolé. On peut alors admettre que chaque lavage apportant de nouvelles quantités de thiamine, une véritable accumulation de la substance a été réalisée au niveau du fragment d'iléon et il est difficile alors de parler en termes de concentration.

Il faut au contraire retenir qu'il s'agit d'un phénomène se réalisant préférentiellement lorsqu'une solution de thiamine à 10^{-8} baigne de façon continue et homogène l'organe isolé.

On doit rapprocher cette concentration des concentrations sanguines physiologiques en thiamine de l'ordre de $0{,}5 \cdot 10^{-8}$ chez le cobaye [90]. Il est certes difficile de comparer les conditions expérimentales décrites avec les conditions physiologique de l'iléon et les quantités d'acétylcholine administrées avec celles que libère la stimulation nerveuse, mais une implication physiologique du phénomène décrit n'est cependant pas à rejeter.

L'action dépressive des fortes doses de thiamine sur l'iléon de cobaye appelle deux commentaires :

— la solution administrée est fortement acide, suffisamment pour abaisser le pH de la solution nutritive :
  — à 10^{-4} : 7,20 37°C ;
  — à 10^{-3} : 6,40 37°C ;
  — à 10^{-2} : 4,60 37°C ;

— les pH des solutions de thiamine à 10^{-3} et 10^{-2} sont difficilement compatibles avec la vie cellulaire et il est dans ces conditions impossible de faire la part de l'acidité et de l'effet pharmacologique propre de la substance dans l'action dépressive constatée.

D) Mécanisme de potentialisation, par la thiamine, des effets de l'acétylcholine sur l'iléon isolé de cobaye

PRINCIPE

La potentialisation des effets de l'acétylcholine par la thiamine ne survient qu'après un certain temps de latence : on peut supposer que ce délai est nécessaire à la synthèse d'un composé pharmacologiquement actif sur l'iléon, soit de l'acétylcholine, soit d'un nouveau médiateur.

Or Byer a pu montrer que le développement de cette action n'entraîne ni augmentation de la quantité d'acétylcholine présente, ni apparition d'un nouveau médiateur, type acétylthiamine.

Seule l'hypothèse d'une plus grande efficacité de l'acétylcholine administrée reste vraisemblable. Elle a été confirmée de la façon suivante :

D'après les résultats précédents, il est possible de prévoir l'effet d'une dose D1 d'acétylcholine potentialisée par une dose fixe de thiamine. Un effet identique peut alors être reproduit par tâtonnement avec une dose D2 d'acétylcholine administrée seule, évidemment plus grande que D1. Avec cette dose D2, on détermine alors une dose d'atropine inhibant d'environ 50 % la contraction obtenue. Cette dose est enfin administrée avant la dose D1 d'acétylcholine à un fragment d'iléon de cobaye traité au préalable par la thiamine.

Une absence ou une faible diminution de l'amplitude de la contraction obtenue indique une action insensible à l'atropine, c'est-à-dire différente de celle de l'acétylcholine. Une diminution nette de l'effet (d'au moins 50 %) indique au contraire une action sensible à l'atropine, c'est-à-dire vraisemblablement une action cholinergique.

PROTOCOLE EXPERIMENTAL

Appareil et montage utilisés ont déjà été décrits. L'atropine a été administrée sous forme de sulfate, en solution aqueuse.

Deux types d'expériences ont été réalisées, qui peuvent se schématiser ainsi :

Effet immédiat de la thiamine :

— temps 0, administration de thiamine ;
— + 0,5^{e} minute, administration de sulfate d'atropine ;
— + 1^{e} minute, administration d'acétylcholine ;
— + 2^{e} minute, lavage après 1 minute de contact.

Effet tardif de la thiamine :

— temps 0, administration de thiamine ; lavages successifs avec une solution nutritive de concentration choisie en thiamine ;
— 43^{e} minute, administration d'acétylcholine : D1 ;

— 44e minute, lavage ;
— 46e minute, administration de sulfate d'atropine ;
— 46,5e minute, administration d'acétylcholine : D1 ;
— 47,5e minute, lavage.

Il a d'autre part été vérifié dans le premier protocole que la thiamine seule aux doses choisies ne modifiait pas après une minute d'application l'effet produit par l'acétylcholine. Ces expériences ont été réalisées en double, pour les concentrations en thiamine suivantes : 10^{-12}, 10^{-10}, 10^{-8}, 10^{-6}.

RESULTATS

Effet immédiat de la thiamine : dans cette expérience, la thiamine ne modifie ni les effets de l'acétylcholine administrée seule, ni l'effet résultant de la composition des deux doses de sulfate d'atropine et d'acétylcholine.

Effet tardif de la thiamine : à toutes les concentrations de thiamine étudiées, les diminutions de l'amplitude de contraction iléale provoquée par le sulfate d'atropine sur la dose D2 d'acétylcholine et sur la dose D1 d'acétylcholine potentialisée ont été à peu près identiques.

Les résultats obtenus permettent de supposer que le mécanisme de potentialisation des effets de l'acétylcholine par la thiamine est soit purement cholinergique, soit dû à un nouveau médiateur agissant comme l'acétylcholine et comme elle sensible à l'atropine. La première hypothèse semble la plus plausible.

DISCUSSION

A faible dose, action propre de la thiamine et potentialisation des effets de l'acétylcholine ont même latence, même sens et se réalisent dans les mêmes conditions expérimentales. Il est de ce fait permis de supposer que l'action propre de la thiamine sur l'iléon isolé de cobaye est due à la potentialisation de l'acétylcholine tissulaire active du tissu.

Si l'on admet que le mécanisme de potentialisation est de nature purement cholinergique, deux hypothèses sont possibles :

— la thiamine, à faible dose, augmente la sensibilité des récepteurs cholinergiques spécifiques ;
— la thiamine, à faible dose, permet, lors de l'administration d'acétylcholine à l'organe isolé, la fixation d'une plus grande quantité d'acétylcholine au niveau des récepteurs spécifiques, la part stockée par le tissu au niveau des accepteurs aspécifiques étant diminuée. Dans ce cas, le rôle de la thiamine pourrait être de se fixer sur ces accepteurs, bloquant ainsi le stockage de l'acétylcholine. Ainsi s'expliquerait :

1° la nécessité de l'administration préalable de thiamine pour observer une potentialisation de l'acétylcholine ;

2° la nécessité de lavages successifs pour obtenir une potentialisation.

Les accepteurs libérant au repos de faibles quantités de leurs produits stockés, le renouvellement du liquide nutritif augmente cette libération et permet ainsi une fixation thiaminique suffisante.

La fixation de thiamine sur l'accepteur peut se comprendre si l'on admet qu'elle est de nature électrostatique. Les molécules d'acétylcholine et de thiamine possédant toutes deux une fonction ammonium quaternaire fortement électro-positive pouvant se fixer également sur une protéine de charge inverse.

On ne peut enfin préjuger la nature des protéines acceptrices sur lesquelles se fixerait la thiamine. Leur localisation à l'extrémité de la fibre nerveuse parasympathique est possible. Le chlorhydrate de thiamine prendrait alors la place de l'acétylcholine au niveau des vésicules synaptiques. Ainsi s'expliquerait la libération de thiamine parallèlement à celle de l'acétylcholine lors de la stimulation nerveuse vagale. Signalons enfin qu'une action complexe de la thiamine au niveau des plexus d'Auerbach a été décrite récemment par Takesi, Hukuhara et Fukuda [88]. Ces auteurs ont montré qu'un dérivé proche de la thiamine, le disulfure de tétrahydrofurfurylthiamine, possédait une action double sur l'iléon de cobaye, diminuant le tonus des fibres musculaires et augmentant l'amplitude des contractions intestinales spontanées. Selon ces auteurs, ces effets s'expliquent par une stimulation des deux types de ganglions des plexus d'Auerbach, moteurs et inhibiteurs des fibres intestinales.

Peut-être dans ces conditions, la thiamine aurait-elle une action surtout motrice qui s'épuiserait rapidement avec les stocks d'acétylcholine du fragment d'iléon utilisé.

E) Recherche d'une éventuelle interaction thiamine-système nerveux sympathique

PRINCIPE

Une action sur le système nerveux sympathique pourrait éventuellement permettre l'action propre de la thiamine sur l'iléon isolé de cobaye. En ce sens, trois possibilités sont à envisager : une action α stimulante, une action β bloquante ou ces deux actions simultanées. Dans ce but, ces effets éventuels ont été recherchés selon les deux protocoles suivants :

PROTOCOLES EXPERIMENTAUX

1) Action α stimulante :

Elle a été recherchée sur la rate isolée de lapin. Cette préparation est réalisée de la façon suivante :

La rate d'un lapin de 2 kg environ est prélevée immédiatement après sacrifice de l'animal. L'organe est alors plongé dans un liquide nutritif de même composition que celui utilisé précédemment pour l'étude de l'iléon, à l'exception du taux de bicarbonate de sodium double du premier. Deux fils sont ensuite fixés à chaque extrémité de la rate ; une extrémité est fixée à la base de l'appareil à organe isolé déjà décrit et l'autre extrémité reliée par le fil à un stylet inscripteur en contact avec un cylindre enregistreur recouvert d'une feuille de papier enduite de noir de fumée. La solution nutritive est maintenue à 37°C, son oxygénation est assurée par un courant d'oxygène de débit constant. Une dose de noradrénaline donnant une contraction importante de la rate a été déterminée. La thiamine a ensuite été administrée dissoute dans la solution nutritive, fréquemment renouvelée par lavages successifs, toutes les trois minutes, de l'organe avec cette solution. La noradrénaline a été administrée toutes les dix minutes, pendant une minute, puis éliminée par lavage, la contraction obtenue étant enregistrée. L'expérience a duré une heure. Pour les concentrations de thiamine suivantes : 10^{-12}, 10^{-10}, 10^{-8} et 10^{-6}, une détermination a été réalisée avec chaque fois un organe différent.

2) Action β bloquante :

Selon un protocole identique au précédent, une éventuelle action β bloquante a été recherchée sur la trachée isolée de cobaye.

Dix à douze anneaux trachéaux sont disséqués immédiatement après sacrifice de l'animal. Ils sont ensuite reliés les uns aux autres par de fines ligatures lâches réalisées avec du fil de soie, l'assemblage formant une chaîne, plongée immédiatement dans la solution nutritive puis introduite dans l'appareil, fixée à ce dernier en sa partie inférieure, à un stylet inscripteur en sa partie supérieure.

Une dose d'acétylcholine entraînant une contraction nette et une dose d'isoprénaline inhibant d'environ 50 % l'amplitude de cette contraction ont été déterminées. La thiamine a été ensuite administrée aux mêmes doses, selon le protocole indiqué précédemment.

La mesure proprement dite d'une éventuelle action de la thiamine a été réalisée toutes les dix minutes après son apport dans la solution nutritive, l'expérience durant une heure, selon le schéma suivant :

— 0, administration d'isoprénaline ;

— 1re minute, administration d'acétylcholine, mesure de l'amplitude de la contraction obtenue ;

— 2e minute, lavage.

Entre chaque essai, l'action de l'acétylcholine seule a été déterminée pour mettre en évidence une éventuelle variation de l'effet qu'elle produit sous l'influence de la seule thiamine.

RESULTATS

1) Recherche d'un effet α stimulant éventuel :

La thiamine aux doses étudiées n'a, pendant toute la durée des expériences, manifesté aucune action propre sur la rate isolée de lapin. Elle n'a de plus jamais modifié l'amplitude de la contraction obtenue par administration de noradrénaline. On peut donc conclure que dans les conditions expérimentales retenues, aucune action α stimulante de la thiamine n'a pu être mise en évidence.

2) Recherche d'un effet β bloquant éventuel :

Les contractions obtenues par administration d'une dose fixe d'acétylcholine sur la trachée isolée de cobaye en présence de thiamine ont été d'amplitudes voisines, les dernières étant légèrement plus grandes que la première sans pour autant être aussi augmentées que lors des expériences sur l'iléon isolé de cobaye. Cette variation a de plus été retrouvée dans les mêmes conditions expérimentales sans thiamine. Dans ces conditions, la thiamine aux doses étudiées n'a pas modifié l'amplitude de la contraction résultant de l'administration consécutive d'isoprénaline et d'acétylcholine. Aucune action β bloquante n'a pu ainsi être observée.

DISCUSSION

L'augmentation de l'amplitude des contractions de la préparation d'anneaux trachéaux de cobaye par administrations répétées d'une même dose d'acétylcholine se produit avec ou sans thiamine.

Il s'agit donc là d'un phénomène d'auto-sensibilisation à l'acétylcholine de la préparation, indépendant de tout effet thiaminique. Aucune action α stimulante ou β bloquante de la thiamine n'a pu être mise en évidence dans les expériences rapportées. Un mécanisme adrénergique semble donc exclu pour expliquer l'action de la thiamine sur l'iléon isolé de cobaye.

CHAPITRE III

La toxicité de la thiamine chez l'animal

On a d'abord déterminé les doses toxiques de thiamine chez l'animal en respiration assistée. Les résultats obtenus ont été comparés aux doses toxiques pour l'animal « normal », non soumis à la respiration assistée. Les causes possibles de la toxicité thiaminique ont été décrites et discutées.

I) Toxicité de la thiamine chez l'animal normal

A) Doses toxiques

La toxicité de la thiamine administrée par injection intra-veineuse rapide d'une solution concentrée, a été étudiée par MOLITOR et SAMPSON [62] chez quatre espèces animales. Les doses léthales 50 obtenues ont été :

— Souris ..... 125 mg par kg
— Rat ..... 250 mg par kg
— Lapin ..... 300 mg par kg
— Chien ..... 350 mg par kg

Il existe d'importantes variations selon la voie d'administration. LECHAT [63] a obtenu les doses léthales 50 suivantes, chez la souris :

— Voie intra-veineuse ..... 125 mg par kg
— Voie intra-péritonéale ..... 500 mg par kg
— Voie orale ..... 3.000 mg par kg

Pour une voie d'administration et une espèce animale déterminées, la toxicité de la thiamine dépend :

a) *De la concentration des solutions :*

CHARONNAT et LECHAT [24] ont montré que, chez la souris, par voie intra-veineuse, les doses léthales sont d'autant plus faibles que la concentration des solutions injectées est plus grande.

b) *De la vitesse d'injection des solutions :*

Les mêmes auteurs ont montré que, chez la souris [24], une même dose : 100 mg par kg de thiamine administrée par voie intra-veineuse tue 80 % des animaux lorsqu'elle est injectée en dix secondes et seulement 50 % lorsqu'elle est injectée en quarante secondes. De même, chez le cobaye [63], la dose minimum mortelle de la thiamine injectée en solution à 1 g pour 100 ml dépend de la vitesse de la perfusion :

— 0,5 ml par minute ..... DMM, 457 mg par kg
— 2,5 ml par minute ..... DMM, 320 mg par kg

c) *Du pH des solutions :*

Une telle variation est prévisible puisque la neutralisation des solutions aqueuses de thiamine diminue certaines de ses activités pharmacologiques [51, 55, 63].

B) Facteurs de toxicité

Chez l'animal, l'injection intra-veineuse d'une dose mortelle de thiamine produit convulsions, paralysie respiratoire précédant la mort par arrêt cardiaque.

Ce tableau a été retrouvé chez des espèces animales très diverses : souris [13], chien [86] et lapin [14]. Chez ce dernier animal, Boissier et coll. [14] ont donné une description détaillée de ce tableau : « Au moment de l'injection, l'animal crie et se débat de façon désordonnée. Ces mouvements cessent à la fin de l'injection et l'animal tombe sur le flanc, hypotonique. Cette phase de calme est entrecoupée de mouvements spasmodiques avec extension des pattes postérieures, agitation des membres et de la tête, mais sans aucune systématisation pouvant évoquer une crise tonico-clonique. D'emblée, la respiration est déprimée, l'animal donne l'impression de soif d'air, son museau se cyanose ; la mort survient dans tous les cas en quatre à cinq minutes après une phase d'inertie totale d'une minute environ. »

Deux hypothèses peuvent être invoquées pour expliquer les « convulsions » observées :

1) Une action centrale :

En faveur de cette hypothèse :

— l'observation de convulsions après administration de thiamine par voie intra-rachidienne chez le chien et le chat [87];
— l'existence d'importantes modifications de l'électroencéphalogramme lors de la phase convulsive chez le pigeon [71];

— la possibilité de provoquer des convulsions chez le chien par application corticale de thiamine au niveau de l'aire motrice [38];
— la prévention des convulsions chez le lapin par injection préalable de phénobarbital [25].

2) Une action périphérique par curarisation diaphragmatique :

En faveur de cette hypothèse :
— l'aspect clinique des convulsions. On observe en effet « des mouvements spasmodiques avec extension des pattes postérieures, agitation des membres et de la tête, mais sans aucune systématisation pouvant évoquer une crise tonico-clonique ». Les animaux semblent plutôt se débattre à la recherche d'air. La paralysie diaphragmatique précédant la paralysie des muscles périphériques (voir chapitre II) permet d'expliquer l'existence de mouvements des membres alors que la respiration est déjà nettement déprimée ;
— l'existence de phénomènes du même type après injection de doses convenablement choisies de d-tubocurarine et de gallamine [15], curares dont la cinétique relative d'action sur les membres diaphragmatiques et périphériques est la même que celle de la thiamine ;
— la prévention de ces convulsions par administration préalable de prostigmine.

Ces deux hypothèses ne sont pas incompatibles. En effet, on peut imaginer que l'action dépressive respiratoire provoquée par un mécanisme périphérique induise une anoxie cérébrale qui peut être génératrice de convulsions. L'impossibilité technique d'effectuer au moment de ces « convulsions » un enregistrement de l'électroencéphalogramme ne permet pas une conclusion définitive.

II) Toxicité de la thiamine chez l'animal artificiellement ventilé

A) Doses toxiques

La dose léthale de la thiamine injectée en trente secondes, par voie intra-veineuse, au lapin en respiration assistée est d'environ 1 g par kg.

Les doses minimum mortelles de thiamine, déterminées selon le protocole décrit au chapitre I chez le lapin en respiration assistée, par perfusion de quatre types de solution A, B, C et D, sont indiquées

sur le *Tableau XVII*. Les solutions neutralisées (C et D) sont moins toxiques que les solutions acides (A et B). Toutefois, les valeurs observées pour A et D ne sont pas entre elles significativement différentes.

B) Facteurs de toxicité

Les résultats rapportés permettent de supposer que plusieurs facteurs différents jouent un rôle dans la toxicité de la thiamine chez le lapin en respiration assistée.

1) L'action métabolique :

L'existence d'une hyperkaliémie, d'importance proportionnelle aux doses perfusées lorsque celles-ci dépassent 4 g par kg, et parfois d'hémoglobinémie, permet de suspecter une lyse tissulaire.

Lorsque l'on perfuse des solutions non neutralisées de thiamine, il apparaît une acidose fixe considérable, aggravant l'hyperkaliémie.

La perfusion d'une solution acide est vraisemblablement responsable d'une baisse précoce de la diurèse.

2) L'action rénale :

Après perfusion d'une dose de 6 g par kg, la thiamine provoque un blocage rénal. Cette action semble due à une accumulation de la substance au niveau du rein.

Cette dose peut, en outre, aggraver un dysfonctionnement rénal antérieur dû à la perfusion d'une solution acide.

Les différences entre les doses minimales mortelles observées avec les quatre types de solution thiaminique, peuvent s'expliquer au moins en partie par des différences d'élimination urinaire de la thiamine, les concentrations plasmatiques atteintes au moment de la mort étant identiques (*Tableau XVII*).

3) L'action cardiaque :

Les fortes doses de thiamine provoquent des actions chronotrope et inotrope négatives très importantes. Ces effets sont cependant moins marqués lorsque les solutions administrées sont neutralisées.

4) L'action centrale :

Il est impossible de mettre en évidence cliniquement une action convulsivante, puisque l'animal est totalement curarisé. L'étude des tracés électroencéphalographiques d'animaux en respiration assistée, ayant

reçu de fortes doses de thiamine, montre l'apparition de pointes de haut voltage sans localisation spéciale et de fréquence variable [10].

Une action centrale dans ces conditions ne peut être formellement éliminée.

TABLEAU XVII

SOLUTIONS PERFUSÉES	A Thiamine seule	B Thiamine + Glucose	C Thiamine + CO_3H Na	D Thiamine + Tham
DMM g/kg ± 2 Sm	8,5 ± 2,3	7,9 ± 0,6	14,0 ± 1,8	12,9 ± 2,6
Thiamine totale plasmatique au moment de la mort mg/ml + 2 Sm	19,9 ± 3,6	16,0 ± 3,0	19,3 ± 2,9	20,9 ± 2,8
Thiamine libre plasmatique au moment de la mort mg/ml ± 2 Sm	19,0 ± 3,6	16,0 ± 3,0	15,6 ± 2,2	20,9 ± 2,8

Conclusions

Les effets de l'administration intra-veineuse de fortes doses de thiamine à l'animal artificiellement ventilé ont été étudiés sous trois aspects principaux, métaboliques, pharmacologiques et toxicologiques. Espèces animales, conditions d'administration et doses utilisées sont indiquées sur le *Tableau I* (page 19). Les résultats obtenus sont les suivants :

Métabolisme de la thiamine

1) Distribution dans l'organisme :

Formes retrouvées :

Après injection intra-veineuse, la thiamine a été retrouvée dans l'organisme principalement sous sa forme initiale, non transformée. Les formes mono et biphosphorylées n'existent qu'en faibles quantités, le plus souvent à l'état de traces correspondant aux concentrations physiologiques.

Cette constatation est générale, commune à tous les dosages pratiqués quelles que soient les espèces animales et les doses de thiamine utilisées.

Chez le lapin, la thiamine plasmatique est en partie fixée sur les protéines, sur les seules albumines aux faibles concentrations, sur toutes les fractions aux fortes concentrations.

Quantités retrouvées :

— Chez le lapin : le pourcentage des quantités de thiamine retrouvée dans le plasma et l'urine, par rapport aux doses perfusées, est d'environ 50 % en début de perfusion, ce chiffre étant variable selon les animaux. Ce rapport diminue en fin de perfusion, indiquant peut-être une dégradation de la thiamine, mais surtout une fixation tissulaire importante dont témoignent les taux observés dans différents organes lors de la mort des lapins. La thiamine semble s'accumuler préféren-

tiellement dans certains organes : le rein, le cœur, le foie et les muscles. Ses concentrations cérébrales sont beaucoup plus faibles.

— Chez le chien : le temps de demi-disparition plasmatique de doses de thiamine allant de 0,1 à 2 g par kg est de 36 minutes ± 7. Dans cette limite de doses, il n'existe pas d'accumulation plasmatique de cette substance.

— Chez le rat : à fortes doses, la thiamine injectée se retrouve en quantité plus grande au niveau du cœur qu'au niveau du cerveau.

2) Incidences métaboliques :

La perfusion de thiamine n'entraîne pas, aux doses faibles, de modifications ioniques tant plasmatiques qu'urinaires chez le chien et chez le lapin. Les désordres métaboliques apparaissent, chez ce dernier animal, aux doses de 6 g par kg. Ce sont :

— un blocage rénal. Il est constant chez tous les animaux quelle que soit la nature de la solution perfusée ;
— une hyperkaliémie. Son intensité est proportionnelle aux doses de thiamine perfusée. Elle est plus importante si la solution administrée est acide que si elle est neutre ;
— une acidose fixe. Elle ne survient que lors de perfusions de solutions non neutralisées, pure ou glucosée, de thiamine. Elle est rapidement décompensée, comme en témoigne l'annulation fréquente de la réserve alcaline. Elle s'accompagne souvent d'une hémolyse intense et elle aggrave l'atteinte rénale.

Chez le rat, les taux de noradrénaline et de 5-hydroxytryptamine cérébrale et de noradrénaline cardiaque ne sont pas modifiés par l'administration préalable, par voie intra-veineuse, de doses de thiamine allant de 0,1 à 0,5 g par kg.

Effets pharmacologiques de la thiamine

1) Action cardio-vasculaire :

La perfusion continue d'une solution de thiamine au lapin en respiration assistée entraîne à partir d'une dose seuil de 4 g par kg des effets cardiaques chronotrope et inotrope négatifs. Au-delà de cette dose, les intensités des effets observés sont proportionnelles aux quantités injectées.

La thiamine développe chez le chien, en respiration assistée, une action ganglioplégique nette à la dose de 100 mg par kg. Elle entraîne une hypotension d'intensité proportionnelle aux doses administrées.

2) Action curarisante :

L'étude comparée des curarisations du diaphragme et du tibial antérieur, après injection intra-veineuse d'une dose de 200 mg par kg au rat artificiellement ventilé, a permis de montrer que l'atteinte diaphragmatique est plus précoce, plus intense et plus fugace que l'atteinte du tibial antérieur.

Cette curarisation précoce du diaphragme survenant au stade de la paralysie de Claude Bernard, ne semble pas spécifique de la thiamine, mais commune à toutes les substances curarimimétiques.

3) Thiamine et effet analgésique :

La thiamine, aux doses infra-curarisantes, n'a, chez la souris, le rat et le cobaye :

— aucun effet analgésique propre ;
— aucun effet de potentialisation de l'action de deux analgésiques, la morphine et fentanyl.

4) Thiamine et iléon isolé de cobaye :

A doses faibles, 10^{-12} à 10^{-6}, la thiamine augmente de façon transitoire :

— le tonus des fibres intestinales ;
— l'amplitude des contractions péristaltiques.

Aux mêmes doses, elle potentialise les effets de l'acétylcholine.

Ces deux actions ne peuvent être mises en évidence qu'après contact prolongé et lavages successifs de l'organe isolé avec une solution de thiamine.

Le mécanisme proposé pour expliquer ces effets est le suivant :

La thiamine permet une plus grande fixation d'acétylcholine sur ses récepteurs spécifiques. L'action propre s'expliquerait par une libération d'acétylcholine endogène, la potentialisation de l'acétylcholine exogène par une inhibition de sa fixation aspécifique, permettant une plus grande fixation spécifique.

Effets toxiques de la thiamine

La respiration assistée permet à l'animal de supporter de fortes doses de thiamine. Cette tolérance plus grande s'explique par le fait que la respiration assistée évite à l'animal l'anoxie qui résulterait de la paralysie diaphragmatique.

Un certain nombre d'effets déjà cités semblent concourir à la toxicité de la thiamine. Ce sont :

— l'action cardiaque ;
— l'action rénale ;
— l'action métabolique.

Les solutions acides semblent plus toxiques que les solutions neutralisées, ce qui suggère qu'à la toxicité de la thiamine s'ajoutent dans le premier cas les effets d'un pH bas.

L'action centrale est difficilement interprétable ; elle peut cependant être une cause supplémentaire de toxicité.

L'utilisation de la respiration assistée a permis de mettre en évidence chez l'animal des propriétés pharmacologiques nouvelles, expliquant en partie les effets constatés par DE CASTRO en anesthésiologie humaine. Cette étude prouve ainsi la nécessité de l'étude pharmacologique d'une substance dans les conditions de son utilisation chez l'homme. Les résultats rapportés tendent à préciser et à limiter l'utilisation de thiamine en anesthésiologie. Il semble en effet souhaitable d'administrer la thiamine non pas en solution glucosée mais en solution neutralisée. Cette étude enfin ne préjuge en rien de l'importance du choc thiaminique. Bien qu'il n'ait jamais été constaté dans les expériences décrites, sa survenue chez l'homme artificiellement ventilé ne peut être formellement éliminée.

Vu, le Doyen :
BROUET

Vu, le Président de Thèse :
J.-R. BOISSIER

Vu et Permis d'imprimer,
le Recteur de l'Académie de Paris :
ROCHE

Bibliographie

1. Abderhalden (E.), Abderhalden (R.). — Das verhalten des dünndarmes von an den folgen der B_1 avitaminose leidenden tauben gegenüber acetylcholin. Einfluss von vitamin B_1 (aneurin, thiamin) auf die acetylcholinwirkung. (*Pflüg. Arch. Ges. Physiol.*, 1938, **240**, 388-392.)

2. Agid (R.), Balkanyi (J.). — Action de la vitamine B_1 sur le cœur isolé de grenouille. (*C.R. Soc. Biol.*, 1938, **127**, 680-683.)

3. Agid (R.), Beauvallet (M.), Minz (B.). — Sensibilisation par la vitamine B_1 de l'intestin isolé du rat et de l'appareil circulatoire du chat à l'action de l'acétylcholine. (*C.R. Soc. Biol.*, 1937, **126**, 982-984.)

4. Andral (A.), Blaizot (J.). — Nouvelles recherches sur le rôle de l'aneurine dans les mécanismes cholinergiques. (*Arch. Sci. Physiol.*, 1953, **7**, 189-208.)

5. Andral (A.), Blaizot (J.). — Sur le mécanisme des sensibilisations cholinergiques au niveau de l'intestin isolé du rat. (*Arch. Sci. Physiol.*, 1954, **8**, 349-356.)

6. Andral (A.), Blaizot (J.), Blaizot (S.). — Action de l'aneurine sur l'intestin isolé du rat et de la souris. Son influence sur la réponse de cet organe à l'acétylcholine. (*Arch. Sci. Physiol.*, 1951, **5**, 323-334.)

7. Balaghi (M.), Pearson (W.N.). — Comparative studies of the metabolism of 14 C pyrimidine labeled thiamine, 14 C thiazole labeled thiamine and 35 S labeled thiamine in the rat. (*J. Nutrit.*, 1967, **91**, 9-19.)

8. Bayo (J.M.), Holmdahl (M.), Gautier (E.). — Action de l'aneurine sur l'intestin isolé de rat. (*Helv. Physiol. Pharmacol. Acta*, 1950, **8**, 128-136.)

9. Bogdanski (D.F.), Pletscher (A.), Brodie (B.B.), Udenfriend (S.). — Identification and essay of serotonin in brain. (*J. Pharmacol. Exper. Therap.*, 1956, **117**, 82-88.)

10. Boissier (J.R.), Foulhoux (P.), Simon (P.), Viars (P.). — Action de la thiamine sur les potentiels des nerfs moteurs de la queue de rat provoqués par stimulations électriques et mécaniques. (*Thérapie*, 1966, **21**, 159-165.)

11. Boissier (J.R.), Simon (P.), Viars (P.), Tillement (J.P.). — Effets pharmacologiques et toxiques des doses massives de thiamine. (*Communication à la IV^e Hungarian Conference for Therapy and Pharmacological Research*, Budapest, 1966.)

12. Boissier (J.R.), Simon (P.), Witchitz (S.), Viars (P.). — Action des fortes doses de thiamine sur l'E.C.G. du lapin. (*Anesth. Analg. Reanim.*, 1966, **23**, 557-564.)

13. Boissier (J.R.), Viars (P.), Foulhoux (P.), Simon (P.). — Quelques aspects de la toxicité et de l'activité pharmacologique de la thiamine administrée par voie veineuse à forte dose chez l'animal. (*Anesth. Analg. Reanim.*, sous presse.)

14. Boissier (J.R.), Viars (P.), Simon (P.). — Sur la toxicité de la thiamine par voie intra-veineuse chez le lapin. (*C.R. Soc. Biol.*, 1964, **158**, 2059-2061.)

15. Boissier (J.R.), Viars (P.), Simon (P.). — Bases pharmacologiques de l'utilisation de doses massives de thiamine en anesthésie. (*Communication au Congrès Européen d'Anesthésiologie*, Athènes, 1965.)

16. Boissier (J.R.), Viars (P.), Simon (P.). — Curarisation comparée du diaphragme et du tibial antérieur du lapin sous l'influence de quelques curares. (*C.R. Acad. Sc.*, 1965, **260**, 6696-6697.)

17. Boissier (J.R.), Viars (P.), Simon (P.). — Préparation « diaphragme-phrénique » *in vivo*. (*J. Physiol.*, Paris, 1966, **58**, 115-118.)

18. Boissier (J.R.), Viars (P.), Simon (P.). — Action curarisante de la thiamine. (*Communication au III^e Congrès International de Pharmacologie*, São-Paulo, 1966.)

19. Boldyrev (A.A.), Rush (A.F.). — Influence des hautes doses de thiamine sur l'activité musculaire. (*Farmakol. i Toksikol.*, 1966, **29**, 60-63.)

20. Bourillet (F.). — Antagonisme ou potentialisation de la curarisation par quelques molécules soufrées. (*Thèse Doct. Pharmacie*, Paris, 1959.)

21. Bouyard (P.), Klein (M.). — Effets cardio-vasculaires des fortes doses de thiamine administrées par voie intra-veineuse chez le chien anesthésié. (*Soc. Pharmacie Montpellier*, 1966, **26**, 291-296.)

22. Burch (H.B.). — Fluorimetric assay of cocarboxylase and derivates. (In *Methods in Enzymology*, Y. Kaplan edit., Academic Press, 1957, 946-950.)

23. Byer (J.), Harpuder (K.). — The sensitizing effect of thiamin for acetylcholin. (*J. Pharmacol. Exper. Therap.*, 1940, **70**, 328-333.)

24. Charonnat (R.), Lechat (P.), Chareton (J.). — Recherches sur le choc provoqué par les injections intra-veineuses de vitamine B_1. (*Ann. Pharm. Franç.*, 1953, **11**, 17-26.)

25. Charonnat (R.), Lechat (P.), Chareton (J.). — Recherches biologiques sur la nature du choc thiaminique. (*Ann. Pharm. Franç.*, 1953, **11**, 735-741.)

26. Chauchard (P.). — Contribution à l'étude pharmacodynamique de l'aneurine : action sur la conduction et la transmission nerveuses. (*C.R. Soc. Biol.*, 1941, **135**, 869-872.)

27. Cheymol (J.), Bourillet (F.). — Action antagoniste de substances se rattachant à la thiamine vis-à-vis des effets paralysants musculaires de curarisants acétylcholinomimétiques. (*C.R. Acad. Sc.*, 1956, **242**, 195-197.)

28. Cheymol (J.), Bourillet (F.), Levassort (C.), Kerp (L.). — Sur les actions curarisantes et anticurares de la thiamine et de ses dérivés. (*Arch. Int. Pharmacodyn.*, 1957, **111**, 36-59.)

29. Cohen (Y.), Uzan (A.), Valette (G.). — Thiamine et dithiopropylthiamine. Etude de leur métabolisme par marquage au soufre 35 chez la souris et le rat. (*Biochem. Pharmacol.*, 1962, **11**, 721-732.)

30. Corrodi (H.), Fuxe (K.), Kokfelt (T.). — The effects of barbiturates on the activity of the catecholamine neurones in the rat brain. (*J. Pharm. Pharmacol.*, 1966, **18**, 556-558.)

31. Corteggiani (E.). — Contribution à l'étude de l'acétylcholine libre et dissimulée sous forme d'un complexe dans le cerveau. (*Thèse Doct. ès Sciences Naturelles*, Paris, 1938.)

32. Cottier (H.), Von Muralt (A.). — Uber die anticholinergische wirkung des zweiten bei vagusreizung freigesetzten stoffes (2. Vagusstoff). (*Helv. Physiol. Pharmacol. Acta*, 1948, **6**, 222-233.)

33. De Castro (J.). — L'aneurine à doses massives en anesthésiologie. (*Communication au XIV^e Congrès Français d'Anesthésiologie*, Nice, 1964.)

34. De Castro (J.). — L'aneurine à doses massives en anesthésiologie. (*Communication au Congrès International de l'Association des Anesthésiologistes Européens*, Athènes, 1965.)

35. De Castro (J.). — La synaptanalgésie. (*Méd. et Hyg.*, 1965, **23**, 1012-1014.)

36. Demole (V.). — Action curarisante de la vitamine B_1. (*Kongressber. XIV^e Int. Phys. Kongress*, Zurich, 1938, 39.)

37. Deniker (P.). — Communication personnelle.

38. Dias (M.V.). — Action of thiamine applied directly to the cerebral cortex. (*Science*, 1947, **105**, 211-212.)

39. Dipalma (J.R.). — In *Drill's Pharmacology in Medecine*. (MacGraw-Hill, 1965, 551.)

40. Dipalma (J.R.), Hitchcock (P.). — Neuromuscular an ganglionic blocking action of thiamine and its derivatives. (*Anesthesiology*, 1958, **19**, 762-769.)

41. Dufait (R.). — Influences de l'aneurine et de l'acétylaneurine sur l'action de différentes substances pharmacologiques sur l'utérus et l'intestin. (*Arch. Int. Pharmacodyn.*, 1941, **66**, 274-292.)

42. Eddy (N.B.). — Studies on hypnotics of the barbituric acid series. (*J. Pharmacol. Exper. Therap.*, 1928, **33**, 43-68.)

43. Erspamer (V.). — Aceticolina e vitamina B_1. Nota I : Ricerche sugli organi isolati sulla pressione del sangue e sulla pupilla dell'occhio di configlio *in situ*. (*Arch. Int. Pharmacodyn.*, 1939, **63**, 261-287.)

44. Gjone (E.). — The blocking effect of large doses of thiamine on neuromuscular transmission. (*Acta Pharmacol. Toxicol.*, 1955, **11**, 55-67.)

45. Greenberg (D.M.). — Metabolic pathways. (Academic Press, 1960, 615-620.)

46. Gurtner (H.P.). — Aneurin und nervenerregung versuche mit S markierten aneurin und aneurinantimetaboliten. (*Helv. Physiol. Pharmacol. Acta*, 1961, supplementum XI, 1-47.)

47. Hayaschi (T.), Kurahashi (Y.), Takeuchi (H.). — Blocking action of thiamine and its derivatives upon neuromuscular transmission of cold blooded animals. (*J. Vitaminol.*, 1965, **11**, 30-36.)

48. Hazard (R.), Rénier-Cornec (A.). — Dissociation par des ammonium quaternaires ganglioplégiques des actions adrénalinogènes exercées respectivement par l'ion potassium et l'acétylcholine. (*Arch. Int. Pharmacodyn.*, 1965, **155**, 43-46.)

49. Hugget (A.), Nixon (D.A.). — Enzymic determination of blood glucose. (*Biochem. J.*, 1957, **66**, 12 p.)

50. Iacono (J.M.), Johnson (B.C.). — Thiamine metabolism. I. The metabolism of thiazole 14 C 2 thiamine in the rat. (*J. Amer. Chem. Soc.*, 1957, **79**, 6321-6324.)

51. Jackson (B.), Wald (G.). — The action of thiamine and cocarboxylase upon the frog ventricle. (*Amer. J. Physiol.*, 1941, **135**, 464-473.)

52. Jacob (J.), Szerb (J.). — Sur les propriétés thermo-analgésiques de la cortisone et de l'adrénocorticotrophine et les modifications de la réactivité à la douleur causées par le bichlorhydrate d'histamine, le refroidissement et le formol. (*Arch. Int. Pharmacodyn.*, 1952, **90**, 301-320.)

53. Jacoud (J.M.), Wolf (G.), Connor Johnson (B.). — Metabolism of radioactive thiamine in the rat. (*Fed. Proc.*, 1953, **12**, 233.)

54. Janssen (P.A.J.), Niemegeers (C.J.F.), Dony (J.G.H.). — The inhibitory effect of fentanyl and other-morphine-like analgesics on the warm water induced tail withdrawal reflex in rats. (*Arzn. Forsch.*, 1963, **13**, 502-507.)

55. Kaiser (P.). — Uber die wirkung des vitamin B_1 auf das isolierte froschherz. (*Pflüger's Arch.*, 1939, **242**, 504-507.)

56. Kitamora (M.), Ivchi (I.). — An improved diacetylmonoxime method for the determination of urea in blood an urine. (*Clin. Chim. Acta*, 1959, **4**, 701-706.)

57. Kohler (D.), Barbe (M.). — Action des catalyseurs d'oxydation sur l'augmentation, par l'adrénaline, de la réponse de l'intestin isolé à l'acétylcholine. (*C.R. Soc. Biol.*, 1953, **147**, 53-56.)

58. La Grutta (G.), Abbadesa (S.), Ajello (T.), La Grutta (V.). — Antiesterase activity of thiamine and folic acid. (*Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1961, **37**, 116-117.)

59. La Grutta (G.), Abbadesa (S.), Ajello (T.), La Grutta (V.). — Sul mecanisme dell'attivita convulsiva provocata dalla tiamina e dall' acide folico. (*Arch. Sci. Biol.*, 1962, **46**, 35-55.)

60. Langendorff (O.). — Untersuchungen am uberlebenden Saügetierherzen. (*Arch. f. die Ges. Physiol.*, 1895, **61**, 291-332.)

61. Laser (S.). — Untersuchungen über den antagonismus aneurin-acetylcholin am froschherzen. (*Intern. Z. Vitaminforsch.*, 1948, **20**, 94-108.)

62. Lechat (P.). — Pharmacodynamie de la thiamine et de ses dérivés. (*Actual. Pharmacol.*, Paris, Masson, 1960, 13e série, 161-188.)

63. Lechat (P.). — Problèmes posés par la vitamine B_1 et perspectives offertes par certains de ses dérivés en anesthésiologie. (*Acta de l'Institut d'Anesthésiologie*, 1960, **9**, 127-151.)

64. Lockart (A.). — Les accidents de la vitaminothérapie B_1 ; leur origine allergique. (*Thèse Doct. Médecine*, Paris, 1960.)

65. Malnic (G.), Rocha e Silva (M. Jr), De Angelis (R.C.), Carvallo de Silva (A.). — Simultaneous excretion of thiamine and thiamine phosphates by the dog. (*Amer. J. Physiol.*, 1962, **202**, 1109-1114.)

66. Marcy (R.), Davy (M.). — Etude expérimentale sur l'animal de l'association acide acétylsalicylique-vitamine B_1. Variation de son activité analgésique en fonction de l'augmentation du rapport vitamine B_1-acide acétylsalicylique. (*Thérapie*, 1960, **15**, 967-973.)

67. Massart (L.), Dufait (R.). — Enzymic hydrolysis of acetylaneurin. (*Naturwiessenschaften*, 1939, **33**, 567.)

68. Massart (L.), Dufait (R.). — Hydrolyse enzymatique et action pharmacologique de l'acétylaneurine. (*Enzymologia*, 1940, **8**, 392-395.)

69. Minz (B.). — Sur la libération de la vitamine B_1 par le tronc isolé du nerf pneumogastrique soumis à l'excitation électrique. (*C.R. Soc. Biol.*, 1938, **127**, 1251-1254.)

70. Minz (B.), Plotka (C.). — Sur le mécanisme de la synergie des médiateurs chimiques. (*Arch. Sci. Physiol.*, 1947, **1**, 19-33.)

71. Mouriquand (G.), Charonnat (R.), Lechat (P.), Edel (V.), Chareton (J.), Chighizola (R.). — Thiamine et ses constituants pyrimidique et thiazolique devant l'indice chronologique vestibulaire. (*C.R. Ac. Sc.*, 1953, **236**, 1396-1398.)

72. Mouriquand (G.), Courjon (J.), Edel (V.), Bonnet (H.). — Etude électroencéphalographique expérimentale de l'avitaminose B_1 et du choc thiaminique. (*Bull. Acad. Nat. Méd. Paris*, 1952, **136**, 580-585.)

73. Mouriquand (G.), Edel (V.), Chighizola (R.). — Sur le choc vitaminique de l'aneurine. (*C.R. Soc. Biol.*, 1951, **145**, 1192-1193.)

74. Nahas (G.G.), Réveillaud (R.J.). — Elimination du 2 amino 2 hydroxyméthyl 1, 3 propanediol par le rein. (*C.R. Ac. Sc.*, 1961, **253**, 721-723.)

75. Neal (R.A.), Pearson (W.N.). — Studies of thiamine metabolism in the rat. I : Metabolic products found in urine. (*J. Nutrit.*, 1964, **83**, 343-350.)

76. Pick (E.P.), Unna (K.). — Blockade of the nicotine action on the blood pressure by thiazole compounds (sulfathiazole and thiamine) (*J. Pharmacol. Exper. Therap.*, 1946, **87**, 138-147.)

77. Polonovski (C.), Colin (J.). — Explorations biologiques en pédiatrie. (Expansion Scientifique Française, 1963, 138-140.)

78. Polonovski (C.), Colin (J.). — Explorations biologiques en pédiatrie. (Expansion Scientifique Française, 1963, 511-513.)

79. Rodier (J.), Mallein (R.). — Manuel de biochimie pratique. (Maloine, 1961, 218.)

80. Radoucothomas (C.R.), Radoucothomas (S.), Frommel (E.). — Méthode algésique expérimentale : étude quantitative de l'action

des analgésiques (butazolidine, aminopyrine, morphine, péthidine). (*Helv. Physiol. Pharmacol. Acta,* 1957, **15**, 193-199.)

81. Rodrigues-Cardoso (M.). — Contribution à l'étude de la vitamine B_1. Action du chlorhydrate d'aneurine sur le duodénum de lapin *in vitro*. (*C.R. Soc. Biol.,* 1956, **150**, 1664-1666.)

82. Sanz Sanchez (F.). — Accion de la aneurine y riboflavina sobre intestino aislado y sus relaciones funcionales con la acetilcolina y adrenalina. (*Farmacoterap. Actual., Madrid,* 1944, **1**, 43-51.)

83. Schales (O.), Schales (S.S.). — A simple and accurate method for the determination of chlorid in biological fluids. (*J. Biol. Chem.,* 1941, **140**, 879-881.)

84. Shore (P.A.), Olin (J.S.). — Identification and chemical assay for norepinephrine in brain and other tissues. (*J. Pharmacol. Exper. Therap.,* 1958, **122**, 295-300.)

85. Smith (J.A.), Foa (P.P.), Weinstein (H.R.). — The curare-like action of aneurin. (*Science,* 1948, **108**, 412.)

86. Smith (J.A.), Foa (P.P.), Weinstein (H.R.). — Some aspects of thiamine toxicity. (*J. Pharmacol. Exper. Therap.,* 1948, **93**, 294-302.)

87. Stern (E.L.). — Detoxication and augmented anesthesia of procaine by thiamine. (*Amer. J. Surgery,* 1956, **91**, 164-169.)

88. Takesi Hukuhara, Hiroyuki Fukuda. — The effects of thiamine tetrahydrofurfuryldisulfide upon the movement of the isolated small intestine. (*J. of Vitaminol.,* 1965, **11**, 253-260.)

89. Tanzi (B.). — L'azione della vitamina B_1, acetilcolina e istamina sull'ileo terminale di cavia. (*Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.,* 1941, **16**, 8-9.)

90. Udenfriend (S.). — Fluorescence assay in biology and medecine. (Academic Press, 1963, 236.)

91. Unna (K.), Pick (E.P.). — Inhibition of nervous transmission in synapses and end plates by thiamine. (*J. Pharmacol. Exper. Therap.,* 1944, **81**, 294-300.)

92. Van Slyke (D.), Cullen (G.E.). — Studies of acidosis. I. The bicarbonate concentration of the blood plasma : its significance and its determination as a measure of acidosis. (*J. Biol. Chem.,* 1917, **30**, 289-293.)

93. Verrett (M.J.), Cerecedo (L.R.). — Metabolism of thiamine S 35 in the rabbit. (*Proc. Soc. Exp. Biol. Med.,* 1958, **98**, 509-513.)

94. Von Muralt (A.). — Vagusstoffe. (*Experientia,* 1945, **1**, 136-146.)

95. Yamamoto (I.), Otori (K.), Kojima (S.), Mizocuchi (K.). — Ganglion blocking properties of thiamine and its related compounds. (*Jap. J. Pharmacol.,* 1965, **15**, 298-309.)

TABLE DES MATIÈRES

Introduction 15

Chapitre I. — Aspects métaboliques des fortes doses de thiamine 18

I) Protocoles expérimentaux 18
A) *Espèces animales, doses et rythmes d'administration utilisés* . .. 18
B) *Préparation des animaux* 19
C) *Dosages effectués et méthodes utilisées* 21

II) Distribution de la thiamine injectée à fortes doses 25
A) *Chez le lapin* 25
B) *Chez le chien* 29
C) *Chez le rat* 30

III) Incidences métaboliques de l'administration de fortes doses de thiamine 33
A) *Plasmatiques* 33
B) *Urinaires* 40
C) *Tissulaires* 43

Chapitre II. — Principaux effets pharmacologiques de la thiamine 45

Première partie. — Action cardio-vasculaire de la thiamine 45

I) L'action cardiaque de la thiamine 45
A) *Effet propre de la thiamine* 45
B) *Modification par la thiamine des effets de l'acétylcholine* 47

II) Effets tensionnels des fortes doses de thiamine chez le chien 56

Deuxième partie. — L'action de la thiamine à la jonction neuro-musculaire . 61

I) L'action curarisante de la thiamine 61

A) *Mise en évidence de l'action curarisante* 61

B) *Doses actives de thiamine* 62

C) *Mécanisme de l'action curarisante* 62

D) *Cinétique de l'action curarisante selon les muscles* 63

II) Etude des modalités de l'action curarisante de la thiamine sur les différents muscles 64

Troisième partie. — Thiamine et effet analgésique 65

Quatrième partie. — L'action de la thiamine sur l'iléon isolé 70

A) *Action propre de la thiamine* 71

B) *Modifications des effets de l'acétylcholine par la thiamine* . . . 71

C) *Action propre de la thiamine et modifications des effets de l'acétylcholine sur l'iléon isolé de cobaye* 73

D) *Mécanisme de potentialisation, par la thiamine, des effets de l'acétylcholine sur l'iléon isolé de cobaye* 79

E) *Recherche d'une éventuelle interaction thiamine-système nerveux sympathique* 81

Chapitre III. — La toxicité de la thiamine chez l'animal 84

I) Toxicité de la thiamine chez l'animal normal 84

A) *Doses toxiques* 84

B) *Facteurs de toxicité* 85

II) Toxicité de la thiamine chez l'animal artificiellement ventilé . . . 86

A) *Doses toxiques* 86

B) *Facteurs de toxicité* 87

Conclusions 89

Bibliographie 93

Imprimerie R. Foulon & Cie, 29, rue Deparcieux, Paris XIV^e^